

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y
PODOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**Ensayo clínico controlado de cuatro métodos de venopunción
antebraquial: validación de escala de hemólisis y hallazgos
clínicos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Leticia Carmen Simón López

Directores

Ismael Ortuño Soriano
Emilio Vargas Castrillón
Dolores Ochoa Mazarro

Madrid



U N I V E R S I D A D
COMPLUTENSE
M A D R I D

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS
PRESENTADA PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. LETICIA CARMEN SIMÓN LÓPEZ
con número de DNI/NIE/Pasaporte 05464812N, estudiante en el Programa
de Doctorado CUIDADOS EN SALUD,
de la Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología de la Universidad Complutense de
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y
titulada:

ENSAYO CLÍNICO CONTROLADO DE CUATRO MÉTODOS DE VENOPUNCIÓN ANTEBRAQUIAL.
VALIDACIÓN DE ESCALA DE HEMÓLISIS Y HALLAZGOS CLÍNICOS.

y dirigida por: ISMAEL. ORTUÑO SORIANO, EMILIO VARGAS CASTRILLÓN
MARIA DOLORES OCHOA MAZARRO

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 13 de septiembre de 2019

Fdo.: LETICIA CARMEN SIMÓN LÓPEZ

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y PODOLOGÍA

Departamento de Enfermería



TESIS DOCTORAL

ENSAYO CLÍNICO CONTROLADO DE CUATRO MÉTODOS DE
VENOPUNCIÓN ANTEBRAQUIAL. VALIDACIÓN DE ESCALA DE HEMÓLISIS
Y HALLAZGOS CLÍNICOS

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Leticia Carmen Simón López

Directores

Dr. Ismael Ortuño Soriano

Dr. Emilio Vargas Castrillón

Dra. Dolores Ochoa Mazarro

Madrid, 2019

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y PODOLOGÍA

Departamento de Enfermería



TESIS DOCTORAL

ENSAYO CLÍNICO CONTROLADO DE CUATRO MÉTODOS DE VENOPUNCIÓN
ANTEBRAQUIAL. VALIDACIÓN DE ESCALA DE HEMÓLISIS Y HALLAZGOS CLÍNICOS

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Leticia Carmen Simón López

Directores

Dr. Ismael Ortuño Soriano

Dr. Emilio Vargas Castrillón

Dra. Dolores Ochoa Mazarro

Madrid, 2019

Reservados todos los derechos de la obra. Cualquier parte, parcial o total, para su copia, reproducción o divulgación por cualquier medio de transmisión de información, deberá ser consultado previamente con la autora, y queda sujeto al permiso expreso del titular de los derechos.

Cada día sabemos más y entendemos menos.

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

A mi mentor, y director principal de esta tesis doctoral, el Dr. Ismael Ortuño Soriano, por guiarme, acompañarme y ser el pilar fundamental en cada paso, no sólo de la investigación que concierne, sino desde hace ya 4 años, en la enseñanza del Trabajo Fin de Máster en Investigación en Cuidados de la Salud de la Universidad Complutense de Madrid. Agradecer, la confianza depositada en mí, desde el inicio hasta el presente. Por ser el impulsor y el “motor” de mi motivación, y aportarme fortaleza en cada devenir. Agradecer, siempre, los conocimientos que me has enseñado en el ámbito de la investigación, perfilando mis objetivos profesionales, pero aún más e inherente al procedimiento, por las “alas” del crecimiento personal que me has proporcionado. Por cada una de las tutorías, por aportarme perspectiva, por cada “abrazo enorme” y por transmitirme que los resultados “llegarán a buen puerto”. Una vez más, expresar que, has sido y, eres un ejemplo a seguir en todas las esferas compartidas a lo largo de este camino. Eternamente agradecida por formar un equipo conmigo, antes, ahora, y en el futuro.

A mi tutor y director de tesis, el Dr. Emilio Vargas Castrillón por su asesoramiento de continuidad del trabajo fin de máster en el programa de doctorado, lo que supuso la proyección de esta tesis doctoral. Gracias por haber creído en este recorrido.

A la directora de tesis, Dra. María Dolores Ochoa Mazarro, por su apoyo y reiteración del resultado de la inmersión, en este proyecto, en momentos de fatiga.

A los colaboradores de esta tesis, D. Sergio Luquero Bueno, tanto por las “guardias” improvisadas como por las reuniones programadas. Gracias por cada reflexión “de pasillo”, y por todo lo que me has enseñado. A la Dra. María Carmen Ovejero Benito, por su implicación desembocada en la redacción de artículos científicos, gestados a consecuencia de esta tesis, por el apoyo recibido y por cada “*What’sApp*”.

A mis padres, María Carmen López Alonso y Jesús Simón Encinas, por cada mirada de pureza llena de afecto y ánimo en los momentos más arduos. Por su felicitación en cada etapa conseguida, por estar siempre a mi lado con un apoyo incondicional. Porque un trocito de esta tesis, también es vuestra.

A mi hermano, Néstor Jesús Simón López, por aportar hilaridad a lo largo del asentamiento de las bases de esta tesis. A mi fiel compañero, Mico, por permanecer a mi lado durante la consolidación de este manuscrito.

A Roberto Fernández Rodríguez, por cada abrazo de sosiego, por cada cogida de mano alentadora y por recorrer juntos esta aventura. Gracias por ser mi prisma en numerosas ocasiones, por enseñarme que “todo saldrá bien” y que no es lo mismo “moverse” que “avanzar”.

A mis amigas, Jessica Marian Goodman Casanova, por su llamada, tras llamada, interesándose por mí y esta tesis, de manera desinteresada, por tu presencia, aún en la distancia. A Teresa Requeijo Gómez, por nuestras “escapadas” despejadas y por recordarme que esto “valdrá la pena”. A Marta Lazpita Dominguez, por ser cómplice de mis paréntesis doctorales. A Tamara Vergés Martínez-Meco, por su insaciable disposición en cualquier aspecto relacionado con este

trabajo, por tanto afecto, por estar a mi lado en cada momento. A Teresa Rubí Moral, por cada muestra de ánimo y por enseñarme a “dejarme ser apoyada”. A Noelia Martínez Gromaz, por permanecer a mi lado durante este recorrido; gracias por tus ánimos.

A Marcos González Ruiz, por su valiosa amistad y constituir un cimiento importante a lo largo de todo este tiempo. Gracias por brindar siempre por mí.

A la Universidad Complutense de Madrid, por concederme la oportunidad de ser beneficiaria del programa Oficial de Doctorado en Cuidados en Salud, lo que ha supuesto un punto de inflexión en mi carrera profesional, pero también en el ámbito personal. Asimismo, por haber podido ser instruida en investigación en cuidados de la salud, en estudios de máster.

A la Universidad de Alcalá, por los conocimientos que se me han impartido a lo largo de los estudios de Grado en Enfermería, lo que supone la base de este producto. En particular, a los profesores Dr. Daniel Cuesta Lozano y el Dr. Angel Asenjo Esteve, tanto por las competencias adquiridas en versión de discente, como por la confianza consignada en la continuidad del ámbito universitario.

A los voluntarios, partícipes de este trabajo, no sólo por su disposición inmediata en la participación en esta tesis, sino por su compromiso con la misma, involucrándose en cada prueba que se realizó en el trabajo de campo. Por su colaboración y, aún más, por todo el “calor” que he recibido de su parte hasta la actualidad. Gracias por seguir preguntándome sobre resultados de “aquellas pruebas que nos hiciste”.

A todo el equipo enfermero que ha colaborado en este estudio por su compromiso, tanto con este proyecto como con la investigación en general. A los profesionales, y medios físicos, del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa, por su disposición en hacer posible esta tesis, por una relación basada en la confianza.

Agradecer a todas las personas, no mencionadas anteriormente, que han formado parte de alguna manera, en algún aspecto, a lo largo de esta experiencia tan maravillosa que perdurará en el tiempo.

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE

i.	ÍNDICE DE FIGURAS.....	15
ii.	ÍNDICE DE TABLAS.....	16
iii.	RESUMEN Y ABSTRACT.....	17
iv.	ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	11
1.	INTRODUCCIÓN.....	25
1.1.	ANTECEDENTES DE VENOPUNCIÓN E IMPLICACIONES CLÍNICAS.....	27
1.1.1.	ANTECEDENTES DE DIFICULTAD EN VENOPUNCIÓN.....	27
1.1.2.	ANTECEDENTES DE MEDIDAS ENFOCADAS A LA DIFICULTAD EN VENOPUNCIÓN.....	28
1.1.3.	IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LA VENOPUNCIÓN.....	31
1.2.	JUSTIFICACIÓN.....	35
2.	HIPÓTESIS.....	39
2.1.	HIPÓTESIS PRINCIPAL.....	41
2.2.	HIPÓTESIS SECUNDARIA.....	41
3.	OBJETIVOS.....	43
3.1.	PRINCIPAL.....	45
3.2.	SECUNDARIOS.....	45
4.	MATERIAL Y MÉTODO.....	47
4.1.	TIPO DE ESTUDIO Y DISEÑO.....	49
4.1.1.	DIRIGIDO AL ABORDAJE DEL OBJETIVO PRINCIPAL.....	49
4.1.2.	DIRIGIDO AL ABORDAJE DEL OBJETIVO SECUNDARIO.....	50
4.2.	ÁMBITO DE ESTUDIO.....	50
4.3.	POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	50
4.4.	SUJETOS DE ESTUDIO.....	51
4.5.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN.....	51
4.6.	TÉCNICAS DE MUESTREO.....	53
4.7.	TÉCNICAS DE ASIGNACIÓN.....	54
4.8.	DESCRIPCIÓN DE MEDIDAS BASALES, INTERVENCIONES, COMPARADOR, HALLAZGOS CLÍNICOS Y MANEJO DE MEDICIÓN DE HEMÓLISIS.....	55
4.8.1.	DESCRIPCIÓN DE MEDIDAS BASALES.....	55
4.8.2.	INTERVENCIONES.....	57

4.8.2.1. INTERVENCIÓN DE CALOR TÓPICO SECO [CA] (1).....	57
4.8.2.2. INTERVENCIÓN DE PRESIÓN DE ESTANCAMIENTO ALTA [P] (2).....	57
4.8.2.3. INTERVENCIÓN COMBINADA DE CALOR TÓPICO SECO Y PRESIÓN ALTA DE ESTANCAMIENTO [CAP] (3).....	57
4.8.3. COMPARADOR (C).....	58
4.8.4. HALLAZGOS CLÍNICOS.....	59
4.8.5. MEDICIÓN DE HEMÓLISIS.....	59
4.9. DESCRIPCIÓN DEL MANEJO VISUAL DE HEMÓLISIS.....	61
4.9.1. DETECCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL COLOR.....	61
4.9.2. DISEÑO DE LAS VERSIONES DE LAS ESCALAS.....	62
4.9.3. PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LAS TRES ESCALAS Y FORMATOS.....	65
4.10. CÁLCULO DE TAMAÑOS MUESTRALES.....	67
4.10.1. PRIMER ESTUDIO EXPERIMENTAL DE TRES INTERVENCIONES Y COMPARADOR.....	67
4.10.2. PRIMERA FASE DEL SEGUNDO ESTUDIO EXPERIMENTAL DE DISEÑO DE LAS ESCALAS.....	68
4.10.3. SEGUNDA FASE DEL SEGUNDO ESTUDIO EXPERIMENTAL DE PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LAS VERSIONES.....	69
4.11. SELECCIÓN Y RECOGIDA DE CASOS.....	69
4.12. DESVIACIONES DE PROTOCOLO Y PONTENCIALMENTE CONFUNDENTES.....	70
4.13. VARIABLES.....	72
4.14. ENMASCARAMIENTO.....	74
4.15. CONSIDERACIONES LEGALES, ÉTICAS Y CALIDAD.....	75
4.16. ANÁLISIS DE DATOS.....	77
5. RESULTADOS	81
5.1. PROTOCOLO DE ENSAYO CLÍNICO CON PRODUCTOS SANITARIOS.....	83
5.2. RESULTADOS DE APLICACIÓN DEL PROTOCOLO.....	84
5.2.1. RESULTADOS EN LA CANALIZACIÓN VENOSA ANTEBRAQUIAL.....	84
5.2.2. RESULTADOS EN LAS VERSIONES DE LAS ESCALAS.....	91
5.2.2.1. RESULTADOS EN EL DISEÑO DE LAS TRES VERSIONES.....	92
5.2.2.2. RESULTADOS EN LA PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LAS VERSIONES DE LAS ESCALAS.....	98
5.2.2.2.1. RESULTADOS DE LA ESCALA DEFINITIVA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS.....	100

5.2.2.2.1.1. RESULTADOS EN EL DISEÑO.....	100
5.2.2.2.1.2. RESULTADOS EN LA PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LA ESCALA DEFINITIVA.....	103
6. DISCUSIÓN.....	109
6.1. DISCUSIÓN DEL PROTOCOLO DE ENSAYO CLÍNICO CON PRODUCTOS SANITARIOS.....	111
6.1.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN.....	111
6.1.2. APLICABILIDAD.....	113
6.1.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....	113
6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE APLICACIÓN DEL PROTOCOLO.....	114
6.2.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS EN CANALIZACIÓN.....	114
6.2.1.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN DE RESULTADOS.....	114
6.2.1.2. APLICABILIDAD.....	122
6.2.1.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....	123
6.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN LAS VERSIONES DE LAS ESCALAS DEGRADAS DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS.....	126
6.2.2.1. DISCUSIÓN DE LAS TRES VERSIONES.....	126
6.2.2.1.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN.....	126
6.2.2.1.2. APLICABILIDAD.....	129
6.2.2.1.3. 6.2.2.1.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....	130
6.2.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN LA ESCALA DEGRADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS DEFINITIVA.....	131
6.2.2.2.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN.....	131
6.2.2.2.2. APLICABILIDAD.....	137
6.2.2.2.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....	139
7. CONCLUSIONES.....	143
v. GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	147
vi. GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	151
vii. BIBLIOGRAFÍA.....	155
viii. APÉNDICES.....	169
ix. ANEXOS.....	205

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Asignación aleatoria de las tres intervenciones y la secuencia con el comparador. Elaboración propia.....	55
Figura 2. Ilustración de las tres intervenciones y el comparador. Elaboración propia.....	58
Figura 3. Manejo de la medición de hemólisis en espectrofotometría. Elaboración propia.....	61
Figura 4. Manejo de la inspección visual y enmascaramiento en la prueba de validación. Elaboración propia.....	66
Figura 5. Diagrama de flujo de la elaboración definitiva de material y métodos.....	83
Figura 6. Diagrama de flujo de participantes incluidos y excluidos del ensayo clínico.....	84
Figura 7. Diagrama de la distribución de la edad según el sexo.....	85
Figura 8. Correlación y asociación entre el dolor percibido y la hemólisis en las muestras extraídas a través de cada uno de los métodos aplicados.....	89
Figura 9. Escala degradada de intensidad de hemólisis teórica.....	92
Figura 10. Escala degradada de intensidad de hemólisis real.....	94
Figura 11. Escala degradada de intensidad de hemólisis empírica.....	96
Figura 12. Escala degradada de intensidad de hemólisis definitiva (teórica).....	101
Figura 13. Heterocedasticidad entre los estadios de la escala degradada de hemólisis definitiva (teórica).....	104

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Definición, características y expresión de las variables.....	73
Tabla 2. Características basales y clínicas de los individuos distribuidos por grupo de intervención.....	86
Tabla 3. Resultados de análisis univariante y multivariante. Exclusivamente, las variables estadísticamente significativas ($p<0,05$) fueron incluidas en el análisis multivariante.....	88
Tabla 4. Hallazgos clínicos.....	89
Tabla 5. Tamaño muestral de las versiones de escalas según los límites de los estadios.....	98
Tabla 6. Concordancias según los límites de los estadios.....	99
Tabla 7. Definición de los estadios de la escala degradada definitiva según el modelo HSL.....	100
Tabla 8. Intervalos en grados de tono de color y en unidades adimensionales de absorbancia.....	100
Tabla 9. Mediciones de validez de criterio global y específico de los estadios de la escala definitiva (teórica).....	107

iii. RESUMEN Y ABSTRACT

RESUMEN

Título: Ensayo clínico controlado de cuatro métodos de venopunción antebraquial. Validación de escala de hemólisis y hallazgos clínicos

Introducción: La venopunción es una técnica invasiva reconocida como una de las más frecuentes, en las que se han expresado dificultades como la localización anatómica y los fallos repetidos. Se han destinado investigaciones en canalización venosa periférica guiada por ecógrafo y atenuantes de dolor, sin embargo, evidencian una proporción de canalización al primer intento similar o menor a la práctica clínica habitual. Otras investigaciones abogan por la reducción del dolor, disminuyendo el número de intentos, a través de estrategias efectivas como el empleo de torniquete tanto en canalización al primer intento, como en dilatación venosa. Este procedimiento puede adquirir una connotación diagnóstica, o terapéutica a través de muestras sanguíneas, cuyo método de extracción y los fallos repetidos se han reconocido como factores contribuyentes en hemólisis, el cual desencadena alteraciones que sesgan determinaciones. Se ha establecido que se detecte la presencia de hemólisis en muestras para valorar si supone un motivo de rechazo, siendo el método visual el más extendido.

Objetivos: El objetivo principal es identificar la mayor efectividad, expresada como frecuencia de canalización endovenosa antebraquial exitosa al primer intento, de la aplicación de calor tópico seco, presión de estancamiento alta, o la combinación de calor tópico seco y la presión alta, respecto de la práctica clínica habitual.

Como consecuencia, el objetivo secundario principal es diseñar y analizar parámetros del proceso de validación de versiones de una escala de detección visual de hemólisis de espectro continuo.

Material y métodos: Para el abordaje del objetivo principal, se lleva a cabo un ensayo clínico de fase IV con productos sanitarios, de tipo cruzado incompleto de tres intervenciones de aplicación de calor tópico seco mediante dos sacos de semillas y compresor elástico (n=21), presión alta de estancamiento controlada a 100 mmHg mediante esfigmomanómetro (n=18), y combinación del calor seco y la presión alta anteriores (n=20), con un comparador común de práctica clínica habitual. Ciego a terceros para la detección de hemólisis mediante espectrofotometría en las muestras de voluntarios sanos. Se asigna aleatoriamente la secuencia de orden de aplicación de una intervención con el comparador en dos periodos separados por

un periodo de lavado. Se analiza la percepción venosa, dolor, tipo de piel y se monitoriza la aparición de eventos adversos.

Para el abordaje del objetivo secundario, se lleva a cabo un estudio experimental, analítico, no aleatorizado de detección diagnóstica de 277 muestras de plasma de 62 adultos sanos, muestreo por conveniencia, combinado por cuotas según la magnitud de hemólisis de las muestras a lo largo de 7 estadios de la escala. Se analiza la magnitud de hemólisis según la absorbancia por espectrofotometría, y según el color a través de la identificación en el modelo *Hue, Saturation and Lightness* para elaborar tres versiones de escalas. Se lleva a cabo la prueba de validación de las versiones con varias muestras en 64 adultos sanos, y 6 observadores. Se enmascara tanto a los observadores en la inspección visual de las muestras en los formatos de papel y electrónico, como en el análisis de absorbancia.

Resultados: Se obtiene una efectividad de 2,07 con cualquiera de las tres intervenciones frente al comparador. En particular, la intervención más efectiva en la canalización fue la intervención de presión alta de 2,57 veces más, seguida de la intervención de calor tópico seco de 1,92 veces más, e intervención combinada en 1,90 veces más respecto del comparador. Todos los cambios en percepción venosa antebraquial encontrados, fueron positivos ($p=0,000$). Las tres intervenciones fueron atenuantes del dolor frente al comparador, sin embargo, las intervenciones de presión y combinada, fueron, clínicamente significativas, menos dolorosas. No se detectó un aumento significativo de hemólisis ($p > 0,05$). El 23,72% sufrieron un eritema local o parestesia transitoria que se asociaron significativamente en 13 veces más con las intervenciones que implicaron calor y presión, respectivamente.

Se elaboran tres versiones de hemólisis visual de color diferente, de 7 estadios, de las cuales, sólo una, en formato papel, alcanza unas concordancias satisfactorias del 71,3% entre las puntuaciones visuales de los observadores y la absorbancia. En la escala en papel, se obtuvo un acuerdo moderado entre dos observadores e intraobservador. La estabilidad fue del 99,5% a lo largo de tres mediciones en cada muestra. Se obtuvo una heterocedasticidad significativa entre los 7 estadios ($p=0,000$), y una correlación significativa ascendente entre los valores de absorbancia y los estadios ($\rho=0,988$, $p=0,000$). La validez de apariencia se respalda por Plumhoff et al., como panel de expertos. La adecuación del contenido en el espectro es válida en 71,5% y, una asociación significativa entre la absorbancia y el color para representar la unidimensionalidad ($p\text{-valor}=0,000$). En la validez de criterio, se obtiene globalmente unas concordancias del 71,3%, sensibilidad de 64,6%, especificidad del 100%, valor predictivo positivo

del 100%, negativo del 44,7% y razón de verosimilitud negativa del 35,4%. En el análisis específico en cada estadio se obtienen resultados de concordancias mayores del 70%, excepto el estadio 4 del 60%, y valores predictivos positivos del 100%.

Conclusiones: La intervención más efectiva y menos dolorosa en canalización antebraquial, es la intervención con presión de estancamiento alta, seguida de la intervención de calor tópico seco y, por último, la intervención combinada y, de manera inversa, en términos atenuantes de dolor, todo ello frente a la práctica clínica habitual. Todas agudizan la percepción venosa, son seguras para los individuos tanto por la baja aparición de eventos adversos, como por no desencadenar hemólisis en muestras sanguíneas. Las intervenciones, son no farmacológicas, accesibles al colectivo enfermero, y aplicables a la población con una percepción venosa superficial sana.

Una versión de la escala visual de intensidad de hemólisis, a lo largo de siete estadios, en papel, es válida para reflejar la magnitud de hemólisis en muestras de plasma. El uso de la escala es factible a todos los ámbitos de laboratorio clínico, y supone una alternativa para la determinación del grado de aptitud de muestras en la validación de resultados alterados.

Palabras clave: Calor, escala visual, hemólisis, presión, seguridad, venopunción.

ABSTRACT

Title: Controlled clinical trial of four methods of antebrachial venipuncture. Validation of hemolysis scale and clinical findings

Introduction: Venipuncture is an invasive technique recognized as one of the most frequent, in which difficulties such as anatomical localization and repeated attempts have been displayed. Investigations in peripheral venous catheterization guided by ultrasound and attenuating pain have been performed, however, proportion of achieving at the first attempt has been evidenced similar or fewer than usual clinical practice. Other research advocates for pain reduction, decreasing the number of attempts through effective strategies such as application of heat and tourniquet, both in the first attempt and in venous dilation. This procedure can be focused on diagnostic or therapeutic goals through blood samples. Extraction method and repeated failures are contributing factors in hemolysis, in which alterations are determined that bias parameters. It has been established that the presence of hemolysis have to be detected in samples to assess if there is a reason for rejection, whereas the visual method is the most widespread.

Objectives: The main objective is to identify the highest effectiveness, which is considered as, antebrachial success at first attempt, among application of dry topical heat, high stagnation pressure, or combination of dry topical heat and high pressure; regarding the usual clinical practice.

As a consequence, the main secondary objective is to design and analyze validation parameters of visual hemolysis scale versions of continuous spectrum.

Material and methods: for the main objective, a phase IV clinical trial with health products is carried out. Incomplete cross-over of topical heat application through seed bags and elastic compressor (n=21), high pressure of controlled stagnation at 100 mmHg by sphygmomanometer (n = 18), combination of dry heat and high pressure (n = 20), with a common comparator of usual clinical practice. Third parties blinded for detection of hemolysis by spectrophotometry in samples of healthy volunteers. The sequence of application of an intervention and comparator is randomly assigned in two periods separated by a washout period. The venous perception, pain, skin type are analyzed and the appearance of adverse events is monitored.

To address the secondary main objective, an experimental, analytical, non-randomized study of diagnostic detection though 277 plasma samples of 62 healthy adults. Convenience sampling combined by quotas is performed according to the magnitude of hemolysis of the samples

throughout of 7 stages of the scale. The magnitude of hemolysis is analyzed according to the absorbance by spectrophotometry, and according to the color through the identification in the Hue, Saturation and Lightness model to elaborate three versions of scale. The validation test of the versions is carried out with several samples in 64 healthy adults, and 6 observers. The observers are masked for visual inspection of the samples in the paper and electronic formats of the scales, as for the absorbance analysis.

Results: An effectiveness of 2.07 is obtained with any of the three interventions against the comparator. In particular, the most effective intervention in the canalization was the intervention of high pressure of 2.57 times more, followed by the intervention of dry topical heat of 1.92 times more, and combined intervention in 1.90 times more than the comparator. All the changes in antebrachial venous perception found were positive ($p = 0.000$). The three interventions were more pain attenuated than the comparator, however, interventions of high pressure and combined were clinically significant, less painful. No significant increase in hemolysis was detected ($p > 0.05$). 23.72% suffered a local erythema or a transient paresthesia that were significantly associated 13 times more likely with heat and pressure interventions respectively.

Three versions of visual hemolysis of different color, with 7 stages, are elaborated, of which, only one in paper format, reaches a satisfactory concordance of 71.3% between the visual scores of the observers and the absorbance of hemolysis. The scale in paper, a moderate agreement was obtained between two observers and intraobserver of both. The stability was 99.5% over three measurements in each sample. Significant heteroscedasticity was obtained among the 7 stages ($p = 0.000$), and a significant upward correlation was found between the absorbance values and the stages ($\rho = 0.998$, $p = 0.000$). The validity of appearance is supported by Plumhoff et al., as a panel of experts. The adequacy of the content in the spectrum is valid in 71.5% and, a significant association between absorbance and color to represent the one-dimensionality ($p\text{-value} = 0.000$). In criterion validity, we obtain an overall concordance of 71.3%, sensitivity of 64.6%, specificity of 100%, positive predictive value of 100%, negative of 44.7% and negative likelihood ratio of 35,4%. In the specific analysis, in each stage results of concordances greater than 70% are obtained, except for stage 4 of 60%, and positive predictive values of 100%.

Conclusions: The most effective and least painful intervention in antebrachial vein cannulation, is the intervention with high stagnation pressure. Followed by the intervention of dry topical heat and, finally, the combined intervention and, inversely, in mitigating pain, all this in front of

the usual clinical practice. All of them improve venous perception, are safe for individuals both due to the low appearance of adverse events, and because they do not trigger hemolysis in blood samples. The interventions are non-pharmacological, accessible to nurses, and applicable to the population with superficial venous perception without damage.

One version of visual scale of hemolysis intensity, over seven stages, on paper, is valid to reflect the magnitude of hemolysis in plasma samples. The use of the scale is feasible to all areas of clinical laboratory, and is an alternative for determining the degree of suitability of samples in the validation of altered results.

Key words: heat, hemolysis, pressure, safety, venipuncture, visual scale.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES DE VENOPUNCION E IMPLICACIONES CLÍNICAS

1.1.1. ANTECEDENTES DE DIFICULTAD EN VENOPUNCIÓN

La venopunción es una técnica especialmente comprendida dentro de la competencia enfermera. Se define como “la instalación de una aguja o un catéter en la luz de una vena a través de la piel”. Es reconocida como una de las técnicas invasivas más frecuentes entre todas aquellas que se llevan a cabo en entornos hospitalarios ^{1,2}; en concreto, se ha registrado un porcentaje mayor del 70% u 80%, aproximadamente ³. De la misma manera, en otros ámbitos en los cuales las técnicas invasivas no se realizan con asiduidad, la venopunción es una excepción, como en los centros de salud, domicilios, clínicas sanitarias, entornos laborales y unidades móviles ¹; específicamente se ha constatado un porcentaje mayor del 87,7% en unidades móviles ⁴. En relación a la población destinada, el objetivo de este procedimiento puede adquirir una connotación de cribado, diagnóstica, o terapéutica de continuidad de cuidados ¹.

En rasgos generales de la asistencia sanitaria, la venopunción se lleva a cabo en diferentes niveles de atención tanto en población aparentemente sana como en pacientes. En relación a la población sana, el manejo de la técnica se encamina hacia la realización de análisis sanguíneos en cribados programados ⁵. En relación a la atención de pacientes diagnosticados, se programan análisis sanguíneos encaminados hacia una adecuación terapéutica de cuidados a través de parámetros sanguíneos, como para una monitorización de fármacos para su seguridad ¹. De la misma manera, en individuos sanos y en enfermos diagnosticados, el empleo de venopunción también se dirige a la realización de análisis sanguíneos no programados con potencial tratamiento intravenoso; como en el servicio de urgencias de hospitales ⁵. De tal manera que, en estos últimos casos, la extracción sanguínea tiende a ejecutarse a través de la instalación de un catéter endovenoso periférico; independientemente de la confirmación de un tratamiento intravenoso ⁶.

Adicionalmente, la venopunción corresponde con un componente amplio en la investigación, en lo que refiere tanto a una alta periodicidad de reproducción como a la magnitud del impacto de este procedimiento en los resultados ⁷; la venopunción puntual se encuentra implicada tanto en el análisis de cribado acorde a los criterios de inclusión y exclusión, y su seguridad al final del estudio, como la instalación de un catéter endovenoso periférico para extracción de muestras sanguíneas de perfiles del fármaco estudiado ⁸.

A pesar de ser una técnica protocolizada y rutinaria, tanto el equipo enfermero como los usuarios expresan dificultades en el proceso ⁹. En relación al equipo enfermero, manifiesta complicaciones en la localización anatómica potencialmente accesible o por fallos repetidos. Como consecuencia, genera una latente frustración en el profesional, un aumento del tiempo planificado destinado a tal técnica y, generalmente, cursa con la solicitud de colaboración a un compañero ^{3,5}. En lo que refiere a la frustración del personal, se han descrito abandonos de la profesión, acentuados en aquellos casos con corta experiencia profesional, con una ausencia de evaluación y clasificación de estado venoso previo al desarrollo del procedimiento ³. Como producto, diversas investigaciones han focalizado en la clasificación de los estados venosos encaminados al acceso para lograr una homogeneidad de criterio ^{10,11}. En particular, se ha desarrollado una escala validada en España, *Venous International Assessment (VIA)*, que estandariza la magnitud de dificultad en el acceso venoso antebraquial a través de clasificaciones, aportando información del estado y condiciones venosas a las que hacer frente y, así, encaminar habilidades y recursos desencadenando un aumento potencial de acceso venosos en el primer intento y una disminución de riesgos tanto para el paciente como para los profesionales ¹².

En accesos venosos periféricos limitados o difíciles, por condiciones anatómicas limitantes como en pacientes con alguna extremidad amputada ¹³ o desaconsejada por riesgo de linfodema tras linfadenectomía ¹⁴, o por circunstancias patológicas que incrementan el nivel de complejidad como en pacientes obesos¹⁵, deshidratados, con edemas generalizados¹⁶, oncológicos tratados con quimioterapia intravenosa periférica ¹², psicológicas como temor a la punción, es posible que el recurso de compañeros no resulte exitoso o, resultándolo, desenlace con una demora en el acceso en situaciones de urgencia^{17,18}. Existen entornos de ausencia de equipo enfermero y, por lo tanto, una única enfermera se enfrenta al mismo reto, como en ambulancias y helicópteros en los cuáles se han registrado el 97,94% de los casos atendidos, requirieron de un acceso venoso ^{18,19}. En particular, se ha registrado una canalización exitosa sin demoras en el 87,7% del total de ocasiones que precisaron un acceso venoso periférico, pero en otros casos, la dificultad en la canalización ha influido en el retraso de 30 segundos en resucitación cardiopulmonar en ambulancia ⁴.

1.1.2. ANTECEDENTES DE MEDIDAS ENFOCADAS A LA DIFICULTAD EN VENOPUNCIÓN

Como consecuencia, se han investigado técnicas de canalización venosa periférica guiadas por ecógrafo para circunstancias de difícil acceso, o en las que un tiempo dilatado del acceso amenaza la supervivencia. Sin embargo, estudios experimentales evidencian el uso de

canalización ecoguiada en cinco minutos más de retraso frente a la práctica habitual, la necesidad de enseñanza previa en el uso y manejo del ecógrafo. En relación al ratio de éxito al primer intento, se han encontrado controversias. Algunos autores han hallado en su población a estudio un 76% con el empleo del ecógrafo frente al 56% de la técnica habitual ¹⁶. Resultados de otro estudio obtienen un resultado de éxitos al primer intento ecoguiados del 73% ²⁰, frente al 74% en el procedimiento habitual ¹⁷. A pesar de resultar en proporciones aceptables ambas metodologías, los autores convergen en el padecimiento de punciones accidentales de la arteria braquial o nervio braquial o mediano en la canalización combinada con ecógrafo ^{16,20}. Tras hallar ratios similares de accesos al primer intento, se ha considerado, la canalización ecoguiada, una posible segunda opción en circunstancias de numerosos intentos fallidos tras la técnica habitual por aumentar la satisfacción de los pacientes con la inclusión del ecógrafo ^{16,20}.

En modelo de canalización venosa ecoguiada, no se han incluido las situaciones especiales en las que las infraestructuras son reducidas como en ambulancias y helicópteros; circunstancias en las que el acceso intraóseo se ha mantenido como referencia ante imposibilidad de lograr una canalización endovenosa a pesar del limitado uso de esta vía en un máximo de 24h horas tras su implantación y ocasionar un dolor superior al del acceso endovenoso periférico ¹⁶.

En relación al individuo, experimenta ansiedad, molestia¹¹, dolor e insatisfacción^{2,3}. El dolor es un concepto subjetivo que se produce durante el procedimiento de venopunción, y la ansiedad, generalmente, se produce antes de éste; aunque ambos se complementan ^{5,21}. El dolor es ampliamente reconocido como un signo vital más, encuadrado en el ámbito del acceso venoso ¹ debido a que es considerado una técnica física y psicológicamente traumática, potencialmente adquirida por experiencias doloras precedentes ²¹. Como resultado, las medidas de alivio del dolor se han encaminado hacia toda la población ^{11,20,22}, aunque hay una denotada mayoría de investigaciones destinadas al ámbito pediátrico, pues se han evidenciado consecuencias psicológicas y alteraciones del comportamiento frente a la venopunción en medio y largo plazo cuando los individuos han desencadenado respuestas de estrés en un corto periodo de tiempo en la vida extrauterina ^{21,23}.

En relación a la ansiedad, molestia y dolor en el individuo, se han desarrollado estudios de investigación enfocados hacia la población pediátrica, utilizando preparados orales no farmacológicos como sacarosa oral al 24% ²³, cremas farmacológicas anestésicas locales ²⁴ y técnicas de distracción con videojuegos, películas de dibujos animados, animación personal ²¹, robots ²⁵, y con dispositivos de vibración y frío ²⁶. De la misma manera, se han encaminado

investigaciones hacia la población adulta mediante medidas farmacológicas como cremas anestésicas locales ²², inyección de lidocaína intradérmica ²⁷, cremas no farmacológicas con inducción de frío y calor ²⁸, pulverizadores de frío ²⁹, el uso de musicoterapia individualizado seleccionado tanto por personal sanitario ^{30,31} como auto seleccionado por el individuo ³² y técnicas de Valsalva ³³.

Todas las medidas innovadoras son efectivas en términos atenuantes. Sin embargo cursan con otros efectos que dificultan el acceso venoso como el caso de las cremas analgésicas; en las que se ha registrado una vasoconstricción desencadenante, así como la demora de una hora hasta alcanzar el efecto analgésico ²⁴. También, en las situaciones de punción de líquido intradérmico, se dificulta el reconocimiento venoso en la palpación ²⁷, cremas y pulverizaciones desencadenan vasoconstricción por inducción del frío ^{28,29}, la maniobra de Valsalva conlleva una enseñanza, el manejo del mismo idioma y un estado de consciencia conservado ³³, la musicoterapia conlleva visitas previas para una individualización al perfil del individuo y ajuste del volumen para desencadenar una sensación relajante en lugar de irritante ³⁰, aún ajustada por el propio paciente, conlleva una escucha durante seis minutos precedentes a la técnica y a lo largo de la misma ³².

Como resultado, las medidas analgésicas registradas, han desencadenado en numerosos intentos fallidos que, en evaluación global, es desfavorable para el procedimiento completo de canalización endovenosa antebraquial; manteniendo la conveniencia de la práctica clínica habitual ²⁷.

Otros estudios abordan medidas no farmacológicas para la reducción del dolor, ansiedad y molestia asociada al descenso del número de intentos de canalización endovenosa antebraquial para lograr un acceso. De tal modo, se originan algunas estrategias efectivas como el empleo de calor tópico seco, obteniendo 2,7 veces más probabilidad de canalización al primer intento frente al húmedo, en pacientes onco-hematológicos ¹¹. Otra estrategia de índole similar consolida el efecto del calor seco frente a una ausencia de incremento en temperatura, con aplicación posterior de torniquete durante 30 segundos para el estancamiento venoso, en una dilatación en venas superficiales antebraquiales tanto en calibres mínimos como en calibres mayores; adicionalmente afianza la seguridad hemodinámica y dérmica inherente a la aplicación de la temperatura elevada en población adulta sana ³⁴. De la misma manera, otro estudio experimental realizado en España, resultó efectivo, en más de dos veces superior, la aplicación

de calor tópico seco y torniquete venoso en la percepción venosa antebraquial, frente a la práctica clínica habitual en adultos sanos ³⁵.

Visto que toda la población resulta beneficiaria del procedimiento enfermero de venopunción en una alta frecuencia en todos los ámbitos sanitarios, y las medidas analgésicas, desarrolladas y mencionadas hasta la actualidad (la mayoría están enfocadas hacia la pediatría) mientras que en España se ha registrado lo siguiente: de 820 pacientes atendidos en un servicio de urgencias, 780 requirieron un acceso venoso periférico, de los cuales la media de edad de la población beneficiaria fue 53,6 años ³⁶.

1.1.3. IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LA VENOPUNCIÓN

En relación a la insatisfacción, ésta ha sido considerada como un indicador de calidad de la técnica en el paciente, a su vez, la técnica tiene impacto en la calidad de muestras sanguíneas detectadas en el laboratorio, por lo que algunos autores han evaluado la calidad de las muestras según una satisfacción expresada por el usuario del mencionado procedimiento ³⁷. En concreto, entre el total de los defectos registrados en algunas muestras sanguíneas, el 68,2% aluden a procedimientos efectuados en las fases precedentes a la recepción de una muestra sanguínea en el laboratorio y, por lo tanto, enmarcadas en la fase-preanalítica. De tal manera, se enumeran los procedimientos registrados en dicha fase: pérdidas o no correcta identificación de muestras sanguíneas, condiciones inapropiadas de almacenaje y transporte al laboratorio, ratio inapropiado de anticoagulante, volemia insuficiente, contaminación de fármaco en terapia intravenosa, coagulación de muestras y hemólisis ^{38,39}. Específicamente, la hemólisis ha sido referente de la calidad de muestras, por desencadenar alteraciones en algunas determinaciones sanguíneas con un nivel mínimo de contenido de hemólisis, y el procedimiento reconocido como, probablemente, más contribuyente en la calidad de las muestras sanguíneas, ha sido el método de extracción ³⁹.

En relación a la hemólisis, es definida como la liberación de la hemoglobina intraeritrocitaria en el plasma por una alteración de la pared del hematíe, alterando su composición. La hemoglobina es una molécula compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas; en cada una se encuentra ligada al grupo hemo ligado a un átomo de hierro, lo que produce un color rojizo en el plasma proporcional a la hemoglobina liberada. La presencia de hemólisis en la muestra puede deberse a la variabilidad biológica del paciente, pues cursa con alguna patología, o bien a agentes externos al individuo (*in vitro*); comprendido como factores modificables ⁴⁰.

Como consecuencia, varios estudios se han destinado a estandarizar el método de venopunción en práctica clínica habitual, así como investigaciones comparativas de diferentes métodos de extracción sanguínea. En relación a la estandarización, la Organización Internacional de Normalización (ISO, de las siglas en inglés *International Organization for Standardization*) 15189:2007 estandariza el proceso completo en orden cronológico de la fase pre-analítica, comprende el inicio en la solicitud de determinaciones sanguíneas y el final lo sitúa inmediatamente anterior al inicio del análisis de cada parámetro solicitado ³⁸. De la misma manera, el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, de las siglas en inglés *Clinical and Laboratory Standards Institute*) establece, a lo largo del documento GP41-A6, 17 pasos a seguir para estandarizar la extracción de una muestra sanguínea por venopunción, en combinación con el impacto en el análisis de cada avance correspondiente ^{39,41,42}. Sin embargo, esta última estandarización mencionada, no elude las estrategias que evidencian un aumento de hemólisis. De tal modo que han sido registradas alteraciones de parámetros sanguíneos desencadenados a los 60 segundos de estasis venoso debido a la aplicación del torniquete; por lo que se genera un estándar nuevo con pasos a seguir modificados en un orden cronológico ⁴².

En relación a la comparación de métodos, existe controversia entre estudios, en algunos artículos se expresa que los catéteres, frente a las agujas, han aumentado el porcentaje de muestras rechazadas por hemólisis en el laboratorio ^{39,40}, así como un estudio observacional lo ha corroborado ⁴³. Sin embargo, resultados de otros estudios experimentales hallan discrepancias con lo mencionado anteriormente. En estudio comparativo de extracción de muestras sanguíneas mediante venopunción con aguja frente a la obtención con la implantación de un catéter endovenoso periférico, cuyo resultado fue similar en cuanto al impacto en la hemólisis ⁶. En consonancia, otro estudio no encontró resultados significativos de diferencias en muestras hemolizadas en venopunción con aguja a través de un torniquete con un dispositivo dotado de frío y vibración, enfocado hacia la satisfacción del paciente, comparado con el procedimiento habitual ³⁷. Además, revisiones sistemáticas enuncian como factor predisponentes a la aparición de hemólisis, calibres de catéteres de 24 gauges (G) y 22G, venopunciones localizadas en el dorso de la mano o antebrazo en 3 veces más de probabilidad, frente a la fosa antecubital, y el trasvase de contenido sanguíneo de una jeringa a un tubo colector, entre otros ^{40,44}. Además, otro factor reconocido como potencialmente desencadenante de hemólisis son los intentos de venopunción mayores a uno, y se ha desaconsejado continuar con repetidas venopunciones en más de cuatro intentos, por riesgo aumentado de punción accidental en los profesionales sanitarios ^{2,43,45}. En relación a la seguridad de la venopunción, se han registrado complicaciones de punción accidental para el equipo

enfermero ⁴⁶ y, respecto al paciente, punción accidental arterial ⁴⁷, punción accidental de los nervios medianos y radiales ^{48,49}. En lo que refiere a las complicaciones derivadas de la venopunción fallida repetida, se ha evidenciado un aumento de probabilidad de los riesgos inherentes al procedimiento, de la misma manera para el personal sanitario en punción accidental, como en los beneficiarios una afección arterial y/o braquial por aumento de probabilidad en cada punción ⁵⁰.

En relación a la seguridad vinculada a la calidad de muestras sanguíneas, se ha evidenciado el mismo porcentaje de muestras libres de hemólisis que la venopunción exitosa al primer intento ⁴⁶. En particular, los riesgos para los pacientes se acentúan en venopunciones ecoguiadas, justificado por la canalización de red venosa situada en un plano anatómico profundo visualizado a través del ecógrafo; en contraposición con la práctica clínica habitual en la que la guía es a través de palpación y, por lo tanto, atañe a la red venosa superficial tangible ²⁰. De la misma manera, las muestras de sangre recogidas mediante venopunción por práctica clínica habitual resultan en significativamente mayor porcentaje libre de hemólisis y en menor porcentaje de hemolizadas, sin significación estadística, frente al procedimiento ecoguiado ⁴⁴.

La hemólisis tiene impacto en algunos parámetros sanguíneos, depende de la cantidad de hemoglobina libre en el plasma, alcanzando un umbral que desencadena alteraciones de algunos componentes sanguíneos y, en la misma cantidad, no desencadenan ningún cambio en otros componentes. La mayoría de las modificaciones resultan en una sobreestimación del valor real del componente en las circunstancias del paciente originario de la muestra sanguínea, pero, otros componentes cursan con una infraestimación. Los componentes detectados en la literatura en un estado alterado en diversas cantidades de hemólisis son los siguientes: sodio, potasio, cloro, nitrógeno ureico (BUN), urea, glucosa, colesterol total, triglicéridos, ácido úrico, calcio, fósforo, magnesio, proteínas totales, alanina-aminotransferasa (ALT), aspartato-aminotransferasa (AS), creatinfosfo-cinasa (CPK), fosfatasa alcalina, gammaglutamil transpeptidasa (GGT), hemoglobina, cianometahemoglobina, lactatodeshidrogenasa (LDH), albúmina, hierro, creatinina, bilirrubina y amilasa ⁴⁰. Adicionalmente, en un interferograma, se añade la detección de alteración de los siguientes parámetros: fósforo, magnesio y lipasa ⁵¹. De la misma manera, se incluye la detección de interferencia en inmunoglobulina A ⁵².

Existen controversias sobre el impacto de hemólisis en la determinación de metabolitos analitos de fármacos en sangre. En un estudio no se detectó interferencias por hemólisis en farmacocinética de investigación de algunos fármacos ^{40,53}. Sin embargo, en laboratorios

externos a través de índices de hemólisis, evidencian alteraciones en fármacos como digoxina, vancomicina, gentamicina y fenobarbital, entre otros ⁵⁴.

De acuerdo a la ISO, contempla requisitos de calidad para ser aplicados en el ámbito del laboratorio clínico (ISO 15189:2012), enfocado en la seguridad del paciente para la detección de sus parámetros sanguíneos libres de sesgos por interferencias ⁴². En la seguridad del paciente se encuadran, también, las guías de actuación definidas por la Organización Mundial de la Salud, las cuales establecen en el laboratorio la detección de la presencia de hemólisis en la muestra aislada para analizar y valorar si supone un motivo de rechazo para alguna de las determinaciones solicitadas ⁵⁵.

De tal manera que, la detección de la interferencia por hemólisis en otro componente depende de la cantidad de hemólisis en la muestra, del componente, y de la precisión de detección del método empleado ^{40,51,54,56}. En lo que refiere a la detección de la cantidad de hemólisis, existen interferencias cruzadas que sesgan la cantidad real de hemólisis, debido a la bilirrubina y la lipemia. La lipemia sobreestima y la bilirrubina infraestima la intensidad de la hemólisis y, por ende, la exactitud en la determinación de constituyentes sanguíneos ^{40,57}. Existe una relación no lineal entre las máximas expresiones de hemólisis e interferencias cruzadas, a 414 nanómetros (nm) de longitud de onda se encuentra la máxima intensidad de hemoglobina libre en plasma, es un punto específico de medición en el que las expresiones de bilirrubinemia y lipemia se solapan; en concreto entre 400nm y 540 nm para la detección de ictericia con máxima expresión a 460 nm, y entre 300 nm y 700 nm en la lipemia sin pico máximo de expresión pero óptima detección a 300 nm, en términos de absorbancia ⁵¹. La absorbancia es la intensidad de luz que la hemoglobina de la muestra retiene, la cual corresponde de manera opuesta a la luz visible ultravioleta recibida por espectrofotometría ⁵⁷. En lo que refiere a los métodos de detección de la hemólisis, existen estrategias moleculares a través de citometría de flujo, absorbancia y micro-ARN; con expresión en miligramos por decilitro (mg/dl), índices de hemólisis números ordinales acumulativos, símbolos cardinales acumulativos y valores adimensionales ^{40,51,56-59}; otra estrategia es el método visual que, aunque menos preciso que las anteriores, es de los métodos más extendidos por factibilidad ^{39,40,51,53,56}.

1.2. JUSTIFICACIÓN

Tal y como se ha manifestado, aunque las estrategias enfocadas hacia el adulto hasta la actualidad resulten efectivas en términos atenuantes, no se encuentra promocionada la venopunción al primer intento, no son factibles en la implantación en todas las circunstancias y poblaciones, pues la mayoría de las medidas registradas suponen un tiempo de espera elevado que puede no ser compatible con algunas circunstancias que requieran una atención relativamente ágil. Otras medidas como la musicoterapia, que conlleva un tiempo aceptable, dificultan la comunicación entre el enfermero y el paciente, así como la comunicación entre el equipo sanitario, por lo que, de la misma manera, no es compatible con la mayoría de entornos y circunstancias como en situaciones de urgencia, ni en pacientes con hipoacusia o cofosis. Diferentes recursos como las cremas y pulverizaciones no farmacológicas pueden desencadenar irritaciones dérmicas o no ser compatibles en aplicación a individuos con eccemas o dermatitis atópica elevada y, aunque en el estudio referenciado anteriormente sobre la maniobra de Valsava como alternativa, no se evidenciaron síncope de origen vasovagal ni alteraciones hemodinámicas, dichas complicaciones son potenciales de aparición en población con un perfil hemodinámico comprometido. En puntualización de las estrategias propuestas hasta la actualidad, no se han reconocido como convenientes en su empleo en situaciones de emergencia.

En lo que refiere al impacto sobre el equipo enfermero de las estrategias comentadas, dilata el tiempo estimado dirigido hacia la canalización endovenosa braquial, y no disminuyen el número de intentos, por lo que la frustración se conserva. Además, una prolongación del tiempo destinado a un procedimiento origina una alteración de la organización entre equipos en las instituciones y un aumento de gasto económico público, tanto por el tiempo de los recursos humanos como por el coste adicional de recursos materiales complementarios.

En relación a las medidas farmacológicas como las no farmacológicas, hasta la actualidad, no se ha evaluado el impacto que pueden desencadenar en la calidad de las muestras sanguíneas, pues el diagnóstico y seguimiento terapéutico son funciones facilitadas por la canalización endovenosa periférica. Tanto es así, que en un estudio referenciado anteriormente, la detección de un isotipo de inmunoglobulina A se vio alterada por la hemólisis y, con ello, la dificultad en la detección de la celiaquía; por lo tanto, la detección de parámetros hace alusión a signos potenciales de patologías no detectados a causa del sesgo que supone la presencia de hemólisis en los parámetros sanguíneos a analizar.

Dado que el procedimiento de implantación de catéter antebraquial alberga impacto en diferentes magnitudes en el individuo, equipo sanitario e institución, le confiere a este recurso una influencia multifactorial. Entre todos los factores predisponentes a influir en el proceso y resultado de la técnica, algunos son no modificables y, la mayoría, modificables. Por un lado, los componentes no modificables se enmarcan en las características demográficas y antecedentes de los individuos como la edad, sexo, raza, sobrepeso, obesidad, patologías dérmicas, tipos de piel, aspectos que puedan alterar la percepción venosa superficial como los tatuajes en localizaciones específicas, alteraciones en el sistema venoso superficial y patologías relacionadas, así como otras lesiones de origen no circulatorio que limiten un acceso venoso periférico. Por otro lado, los componentes modificables son numerosos, pero en general se considera que los más contribuyentes son la termorregulación global entre el entorno y el individuo expuesto al procedimiento, la hidratación del sujeto, el dolor y la ansiedad del usuario, la zona anatómica de punción, la experiencia y destreza del equipo enfermero, longitud y diámetro del catéter, la presión de bloqueo para el estancamiento venoso y la presencia de hemólisis en la muestra.

La canalización al primer intento es un aspecto reconocido como mayor influente, por lo que se origina la necesidad de desarrollar métodos de canalización venosa antebraquial con el empleo de factores modificables, a saber: 1. A través de medidas de calor tópico seco (por resultar efectivo experimentalmente en canalización al primer intento en individuos onco-hematológicos), 2. Calor tópico seco en combinación con torniquete venoso (por denotar efectividad empírica en incremento de la actividad fisiológica palpable y de percepción, en adultos sanos).

Por lo tanto, surge la necesidad de conocer el efecto principal facilitador de lograr una canalización venosa antebraquial al primer intento de los métodos mencionados: si el efecto favorecedor es combinado de calor tópico seco con presión alta, o, bien, es único debido al calor tópico seco, o a la presión alta. Así, una vez identificada la estrategia más efectiva para lograr una canalización endovenosa, pueda ser extrapolable a la mayoría de la población, tanto en el entorno nacional como en internacionales, en diferentes circunstancias, de urgencia o con posibilidad de demora, y conforme tanto a los recursos humanos disponibles como a la accesibilidad de los materiales en las diferentes infraestructuras. Adicionalmente, la medida que promueva la canalización al primer intento, no resulte agravante en dolor respecto al experimentado en una canalización endovenosa por la técnica habitual, segura en relación a la hemodinámica y eventos adversos, el manejo de los materiales implicados resulte familiar a los

enfermeros sin necesidad de entrenamiento ni costes adicionales, así garantizar una certidumbre en la alternativa, una actuación ágil y perseverar la calidad de las muestras sanguíneas sin desencadenar un aumento de hemólisis; de tal manera que las estrategias estén adheridas a la seguridad del paciente.

A pesar de que la detección visual de hemólisis garantiza la factibilidad de implantación en cualquier institución, por su rápido empleo y bajo coste, existe una ausencia de escala de hemólisis de detección visual validada y que en su espectro ascendente acoja a la totalidad de casos esperados en el ámbito clínico. Por lo que emerge el motivo, adicional, de diseñar y validar una escala continua en espectro de cantidad de hemólisis en individuos adultos sanos dirigidos a la seguridad tanto de las personas en el ámbito asistencial, como a los resultados, no sesgados, en el ámbito de investigación.

2. HIPÓTESIS

2.1. HIPÓTESIS PRINCIPAL

La efectividad, expresada como frecuencia de canalización endovenosa antebraquial exitosa al primer intento, se encuentra modificada por alguna de las tres aplicaciones de: 1. Calor tópico seco, 2. Presión de torniquete alta, o 3. Combinación de calor tópico seco y presión de torniquete alta, sin impacto en la hemólisis de muestras sanguíneas extraídas inmediatamente después; respecto a la práctica clínica habitual.

2.2. HIPÓTESIS SECUNDARIA

La detección de magnitud de hemólisis de muestras aisladas de sangre a través de una escala visual de espectro continuo alcanza, al menos, una frecuencia de predicción de la intensidad de hemólisis suficientemente satisfactoria, que permita orientar decisiones en relación a la validez de los resultados obtenidos.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Identificar la mayor efectividad, expresada como frecuencia de canalización endovenosa antebraquial exitosa al primer intento, de la aplicación de calor tópico seco, presión de estancamiento alta, o la combinación de calor tópico seco y la presión alta; respecto de la práctica clínica habitual.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Determinar la efectividad, en canalización al primer intento, de cada uno de los métodos empleados (calor tópico seco, presión de estancamiento alta, combinación de ambos) en canalización endovenosa antebraquial.
2. Examinar la efectividad, en términos de canalización al primer intento, de cada uno de los métodos empleados en canalización endovenosa en diferentes zonas anatómicas antebraquiales.
3. Analizar si existe asociación entre frecuencia de venopunción exitosa al primer intento y las características demográficas de los individuos.
4. Evaluar la intensidad de hemólisis de las muestras sanguíneas extraídas inmediatamente después de la canalización venosa, en lo que refiere al método aplicado, respectivamente.
5. Analizar la correlación entre los métodos empleados, intensidad de hemólisis e intensidad de dolor.
6. Identificar y cuantificar los eventos secundarios, así como su relación de aparición según los tipos de piel de los individuos.
7. Diseñar versiones de una escala de detección visual de hemólisis de espectro continuo.
8. Analizar los parámetros del proceso de validación de las versiones de la escala visual de hemólisis y, en caso de validación, la identificación de la versión de escala definitiva validada.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDIO Y DISEÑO

Se plantean dos estudios experimentales:

4.1.1. DIRIGIDO AL ABORDAJE DEL OBJETIVO PRINCIPAL

Estudio experimental, aleatorizado, controlado; correspondiendo cuatro brazos de aplicación, tres de intervenciones y uno de comparador de práctica clínica habitual de inserción de catéter endovenoso hasta el momento. Particularmente, este ensayo clínico se corresponde con una fase IV con productos sanitarios, de tipo cruzado incompleto por no aplicarse sobre un individuo las tres intervenciones y el comparador y ciego a terceros para la detección de hemólisis en las muestras extraídas inmediatamente tras la canalización venosa antebraquial, todo ello en voluntarios sanos.

En relación a los tres brazos de intervenciones, se establecen los siguientes cuyo comparador es común a cada una de ellos:

1. Aplicación de calor tópico seco.
2. Aplicación de presión alta de estancamiento.
3. Aplicación de calor tópico seco y presión alta de estancamiento. Es decir, la combinación de las dos anteriores.

Comparador común:

1. Práctica clínica habitual hasta el momento.

Los individuos son expuestos a una de las tres intervenciones y al comparador en dos periodos separados por un período de lavado de una semana aproximadamente. Las tres intervenciones se asignan aleatoriamente en combinación con la secuencia de aplicación de la intervención y el comparador. La intervención asignada se aplica en un periodo y el comparador en otro periodo. Estos periodos se corresponden con ingresos de ensayos clínicos cruzados con medicamentos, tal y como se describe más adelante en el apartado 4.4., para los cuales es requisito esencial la canalización endovenosa antebraquial previo a la administración del medicamento.

Como consecuencia de dos periodos, no es posible aplicar las tres intervenciones y el comparador en cada individuo participante, por lo que le confiere la característica de ensayo clínico cruzado incompleto, descrito en la figura 1. Cada individuo se expone a una intervención y al comparador, esperando que la variabilidad intraindividual disminuya y aumente el resultado de la efectividad, si hubiere, de las intervenciones.

4.1.2. DIRIGIDO AL ABORDAJE DE OBJETIVOS SECUNDARIOS

Estudio analítico, experimental, posterior al enunciado anteriormente, no aleatorizado, de detección diagnóstica de muestras de plasma, para el proceso de validación de una escala visual de detección de hemólisis, reflejado en los objetivos 7 y 8. Consta de dos fases, ambas unimuestrales, ciego a terceros, de análisis de hemólisis en el *gold standard* y abierto para una única persona encargada de la coordinación y cegamiento.

En la fase de elaboración se realizan varias versiones de espectro lo más ampliamente posible de la magnitud de hemólisis, tanto en soporte papel como electrónico. Todas las versiones se someten al proceso de validación para, al finalizar y obtener los resultados, conocer cuál resulta válida.

4.2. ÁMBITO DE ESTUDIO

El ámbito de estudio de los dos estudios experimentales se enmarca en la canalización endovenosa antebraquial al primer intento, evitar el dolor en el individuo, así como aumentar su seguridad en lo que refiere a presencia de eventos adversos, hemodinámicos y garantizar la calidad de las muestras sanguíneas extraídas.

De la misma manera, el estudio de las propuestas se realiza en condiciones óptimas para evitar resultados sesgados y resaltar la efectividad de las intervenciones y el impacto sobre el dolor cuando el umbral basal no se encuentra alterado, hemodinámicamente estable, y condiciones óptimas de los parámetros sanguíneos delimitados en los considerados rangos de normalidad para evitar una detección de la magnitud de hemólisis sesgada tanto en el análisis molecular como en el visual.

4.3. POBLACIÓN A ESTUDIO

La población a la que se encamina la aplicabilidad de los resultados finales obtenidos en el presente estudio de investigación es a la población adulta sana, en primera instancia, y pacientes adultos y personas mayores sanas o enfermas, en segunda instancia.

A causa de los cambios que se pueden producir en el curso de ciertas enfermedades tanto de índole dermatológico como hemodinámico, requiere una valoración enfermera del riesgo-beneficio individualizada en la asignación de algunas de las intervenciones expuestas. De la misma manera, en individuos sanos mayores, como efecto de los cambios fisiológicos del envejecimiento, de propiedad similar al enunciado para la enfermedad, el balance de riesgo-beneficio se encuentra potencialmente alterado.

Asimismo, la detección de hemólisis visual se encuentra dirigida, principalmente, a adultos sanos en condiciones de ayuno para análisis sanguíneos programados rutinarios como para análisis sanguíneos de no programados de ayuno corto. De la misma manera, se dirige también a análisis sanguíneos en investigación con adultos sanos, tanto en exámenes de seguridad para el individuo como en exámenes de detección de concentración de analitos de medicamentos en sangre.

4.4. SUJETOS DE ESTUDIO

Los sujetos participantes de las dos fases experimentales del estudio de investigación propuesto son voluntarios adultos sanos.

En primer lugar, estos individuos acuden a aportar su conformidad para la participación en un ensayo clínico de dos periodos de bioequivalencia con medicamento del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa. En segundo lugar, como producto, los individuos que cumplen todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión de los ensayos clínicos con medicamento, voluntariamente aportan su conformidad para la participación en el presente ensayo clínico con productos sanitarios.

4.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN

A continuación, se enumeran el conjunto de todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión que cada individuo debe cumplir para ser incluido en el ensayo clínico de bioequivalencia y, adicionalmente, en el presente ensayo clínico con productos sanitarios; en particular se señala con un (*) los criterios que atañen al presente estudio de investigación y, con (**) un criterio de inclusión adicional al resto para el segundo estudio experimental de diseño y validación:

Criterios de inclusión:

1. Hombres y mujeres.
2. Edad: entre 18 y 55 años ⁶⁰.
3. No fumar.
4. No tener enfermedad diagnosticada.
5. Índice de Masa Corporal (IMC) igual o superior a 18,5 kilogramos por metro cuadrado (kg/m^2) e igual o inferior a 29,99 kg/m^2 .
6. Examen físico, signos vitales y electrocardiograma considerado como normal o anormal sin relevancia clínica.

7. Tener los parámetros sanguíneos dentro de los rangos de normalidad. En particular: bilirrubinemia total entre 0,2 y 1,2 mg/dl y bilirrubinemia total mayor de 1,5 del límite superior de la normalidad y que hubieran obtenido un resultado de la bilirrubina directa menor del 35% de la bilirrubina total. Triglicéridos, en ayunas de 8-10 horas, inferiores a 150 mg/dl.
8. No portar enfermedades infecciosas, a través de serología sanguínea de hepatitis B y C, VIH y análisis de orina.
9. No estar embarazada o en periodo de lactancia. En el caso de utilizar anticoncepción estable de al menos un mes y no abandonarlo durante el estudio, o comprometerse a no iniciar una gestación durante el citado periodo de tiempo.
10. Hayan sido incluidos en un ensayo clínico de bioequivalencia de la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de La Princesa.
11. Hayan firmado el consentimiento informado del presente ensayo con productos sanitarios (*).
12. No alcanzar estadio I en la escala VIA ¹², en la primera valoración (*).
13. Ingesta de líquidos igual o menor a 500 mililitros (ml), en las últimas 6-8 horas previas a la canalización venosa (*) ^{1,61}.
14. Muestras sanguíneas preprandiales de ayuno mínimo de 10 horas; o postprandiales respetando un ayuno mínimo de 5 horas (**).

Criterios de exclusión, por defecto:

1. Portador de alguna enfermedad reconocida o diagnosticada.
2. IMC inferior a 18,5 kg/m² y superior a 29,99 kg/m².
3. Resultado de bilirrubinemia total mayor de 1,5 del límite superior de la normalidad y un resultado de la bilirrubina directa igual o mayor del 35% de la bilirrubina total. Triglicéridos, en ayunas de 8-10 horas, igual o superiores a 150 mg/dl.
4. Alcanzar estadio I en la escala VIA ¹², en la primera valoración (*).
5. Ingesta superior a los 500 ml de líquidos en últimas 6-8 horas previas a la canalización venosa (*) ^{1,61}.
6. No demostrar capacidad para la deglución del medicamento del ensayo clínico de bioequivalencia.
7. Intolerancia a la lactosa o gluten, así como corriente vegetariana o vegana.
8. No demostrar capacidad para comprender la hoja de información, y adherirse a las instrucciones descritas (*).

Los criterios de inclusión y exclusión que pertenecen al ensayo clínico de bioequivalencia fueron examinados entre 5 y 7 días anteriores a la realización del primer periodo o primer ingreso del presente ensayo clínico con productos sanitarios. Los criterios de inclusión y exclusión que corresponden al presente estudio de investigación se evaluaron una hora anterior a la implantación de las intervenciones aleatorizadas.

4.6. TÉCNICAS DE MUESTREO

Se consideran las dos fases experimentales del estudio de investigación como de muestra no probabilística, por conveniencia, de voluntarios sanos. Se comunica la existencia del ensayo de bioequivalencia a través de la red social *Twitter*[®] con la fecha y la hora de las reuniones informativas para el reclutamiento, y son los voluntarios los que acuden a inscribirse en tales reuniones y posterior participación, en su caso, por razones particulares, de tal manera que representan un grupo de población de características específicas.

Adicionalmente, para la recogida de muestras sanguíneas para la elaboración de la escala se realiza un muestreo por conveniencia, en tres momentos establecidos del día de ingreso por un aumento de probabilidad de muestras con mayor magnitud de hemólisis a lo largo del día de ingreso de los individuos, para abarcar la mayor amplitud del espectro de la magnitud mínima a la máxima de hemólisis. De la misma manera, el mismo muestreo se lleva a cabo en la fase de prueba de validación de las versiones de la escala, un muestreo por conveniencia en los tres momentos establecidos y, posteriormente, al alcanzar el tamaño muestral mínimo en algunos estadios y, en otros, no ser recolectado el mínimo número de muestras necesarias, se continua el muestreo a través de una técnica por cuotas, hasta conseguir el mínimo tamaño muestral calculado de plasma en cada estadio. Por lo tanto, una vez alcanzado en algunos estadios, el muestreo se focaliza discriminadamente hacia aquellos individuos que proveen muestras de magnitud de hemólisis necesarias para representar cada una de sus intensidades en el espectro. Sin embargo, las muestras adicionales de recogida por cuotas se ha llevado a cabo por un criterio visual, por lo que en estadios adyacentes a los estadios insuficientes de tamaño muestral pueden verse aumentados el número de muestras incluidas tras el análisis de magnitud de hemólisis mediante el gold standard confirmatorio.

4.7. TÉCNICAS DE ASIGNACIÓN

En el primer estudio experimental, la asignación de las intervenciones junto a la secuencia de aplicación de una intervención con el comparador se lleva a cabo a través de una asignación aleatoria.

Se asignan con sobres cerrados donde dentro se detalla la intervención correspondiente a aplicar, el comparador y la secuencia correspondiente. Como resultado, se obtienen seis opciones de secuencias, considerando la cobertura de la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de La Princesa de doce individuos en cada grupo, se establecen los siguientes sobres cerrados con las seis opciones de secuencia para cada grupo, tal y como se describe en la figura 1.

- Cuatro sobres de la intervención de calor tóxico y comparador:
 - Dos sobres de calor tóxico primer periodo, comparador en el segundo: 1 opción [CA-C].
 - Dos sobres de comparador en el primer periodo, calor tóxico en el segundo: 2 opción [C-CA].
- Cuatro sobres de intervención de presión alta y comparador:
 - Dos sobres de combinada en el primer periodo, comparador en el segundo: 3 opción [CA+P-C].
 - Dos sobres de comparador en el primer periodo, combinada en el segundo: 4 opción [C-CA+P].
- Cuatro sobres de intervención combinada y el comparador:
 - Dos sobres de presión alta en el primer periodo, comparador en el segundo: 5 opción [P-C].
 - Dos sobres de comparador en el primer periodo, presión alta en el segundo: 6 opción [C-P].

Este esquema de doce sobres se ha llevado a cabo tantas veces como es necesario para abordar un tamaño muestral suficiente. De inicio, se calcula que para abordar sesenta sujetos, con las pérdidas estimadas y que, finalmente, se obtenga un mínimo de 53 sujetos que hayan completado ambos periodos para obtener una significación estadística de los resultados, es necesario realizar un mínimo de cinco veces el esquema de sobres presentado. Sin embargo, se llevó a cabo seis veces dado que uno de los grupos de individuos del ensayo de bioequivalencia se compuso por siete individuos en lugar de doce.

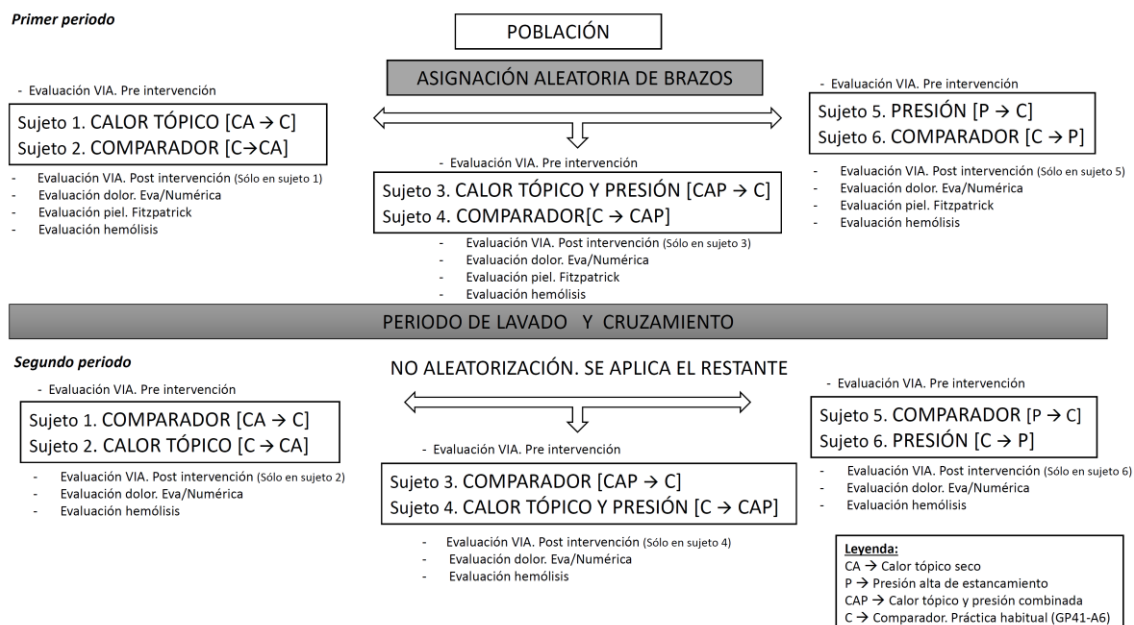


Figura 1. Asignación aleatoria de las tres intervenciones y la secuencia con el comparador. Elaboración propia.

En lo que refiere a la asignación de muestras de plasma en el diseño de las versiones de las escalas, todas las muestras, por cumplimiento de protocolo, han sido incluidas y se han asignado por estratos de acuerdo a los estadios según la magnitud de hemólisis. De manera similar, la asignación de muestras en la fase de prueba de validación se ha llevado a cabo mediante asignación por cuotas uniformes de estadios según la magnitud de hemólisis, y uniforme entre las versiones de las escalas.

En lo que refiere a la asignación de observadores para la primera inspección de cada tanda de muestras de plasma, ha sido por conveniencia y en bola de nieve de acuerdo a la disponibilidad del personal y logística del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa.

4.8. DESCRIPCIÓN DE MEDIDAS BASALES, INTERVENCIONES, COMPARADOR, HALLAZGOS CLÍNICOS Y MANEJO DE MEDICION DE HEMÓLISIS

4.8.1. DESCRIPCIÓN DE MEDIDAS BASALES

Tal y como se ha reflejado anteriormente en la figura 1, antes de la aplicación de cualquier intervención o comparador se lleva a cabo una valoración de la percepción venosa antebraquial, a través de la escala VIA, escala validada de cinco estadios de magnitud inversa¹², con dos fines: en primer lugar, detectar el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión y, en segundo lugar, en el caso de cumplir con los criterios de inclusión, el registro del estadio para observar si

se produce un cambio tras aplicar alguna intervención. La percepción venosa antebraquial se lleva a cabo aplicando la práctica clínica habitual, el comparador, CLSI GP41-A6⁴¹. Se considera justificado el método de percepción venosa por ser el utilizado en la práctica clínica hasta el momento en la valoración del antebrazo previo a la venopunción o canalización endovenosa.

Una vez los sujetos fueron incluidos, se midió la presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y frecuencia cardíaca (Monitor Carescape V100, General Electric, Milwaukee, Estados Unidos de América), temperatura timpánica (Genius 2, Covidien llc., Mansfield, Estados Unidos de América), peso y talla (SECA 711, Seca gmbh & co., Hamburgo, Alemania) inmediatamente antes de la aplicación de la intervención, a excepción de la talla que fue medida, únicamente, en la visita de reclutamiento para el cálculo del IMC, pues se consideró que en el peso podría fluctuar pero no así la talla. De la misma manera, los voluntarios permanecieron en decúbito supino, y se solicitó el cierre de la mano “en puño” durante las intervenciones hasta que se lograra la canalización.

De los dos brazos de cada sujeto, se determinó el miembro superior óptimo en percepción venosa superficial y, se mantuvo el miembro superior seleccionado como óptimo de cada sujeto en los primeros intentos de canalización en ambos periodos, a excepción de juicio enfermero de inviabilidad. Igualmente, la zona anatómica donde se logró la canalización en el primer periodo, fue referencia preferible para la canalización en el segundo periodo. La zona anatómica antebraquial se dividió en: antebrazo distal, medial, proximal y flexura. Se enfocó en los primeros intentos porque fue cuando se aplicó la intervención asignada y el comparador, para disminuir la variabilidad y clarificar la efectividad.

La descripción de la aplicación de las tres intervenciones y el comparador se detallan a continuación y, adicionalmente, en la figura 2. Se considera una canalización endovenosa al primer intento cuando, tras la inserción del catéter en dicho primer intento, se produzca un reflujo venoso y sea posible la extracción de una muestra sanguínea basal a través de un método Vacutainer™ (BD Vacutainer®, Becton Dickinson, México, México)^{6,37,44,45}. En todos los individuos e intervenciones se utilizó un catéter intravenoso de diámetro 20g x 1 ¼” recto de poliuretano (Jelco® ProtectIV® Plus Safety IV Catheter, Smiths Medical International, Ltd., Kent, Reino Unido). En la aplicación de la intervención asignada y el comparador en ambos periodos fue monitorizada la temperatura y humedad de la sala de fase I de la Unidad de Ensayos Clínicos a través del termómetro (OH HAUS OH 503, Greutor, S.L., Barcelona, España) y, de la misma manera, la ropa de los sujetos fue un pijama de algodón en los dos periodos durante los ingresos

para estandarizar la termorregulación y sensación térmica, evitando una sensación percibida de alta temperatura por la temperatura ambiental y no interferir en la efectividad de las intervenciones con calor.

4.8.2. INTERVENCIONES

4.8.2.1. INTERVENCIÓN DE CALOR TÓPICO SECO [CA] (1)

La aplicación se realiza con dos sacos de semillas de algarrobo durante 7 minutos ¹¹, controlado con un cronómetro cuenta atrás portátil (Temporizador digital 100', Alcampo, S.A., Madrid, España) en cada sujeto asignado a esta intervención. Los sacos son previamente calentados en microondas durante 0,50 minutos a 800 vatios (W) de potencia (Saivod MS-1714W, El Corte Inglés, Madrid, España). Ambos sacos son depositados de forma alineada y consecutiva en el área anatómica candidata a la venopunción antebraquial, desde la zona anatómica antebraquial caudal hasta la zona más craneal, entendiendo éste como la flexura. El calor seco es efectivo a una temperatura de 34,4 grados Celsius (°C), se ha estimado que el calor en los sacos podría alcanzar a 800 W, un valor ligeramente menor de 34-35°C, aproximadamente ^{11,61}. Posteriormente, se aplica torniquete de compresión elástica según práctica clínica habitual hasta el momento CLSI GP41-A6 ⁴¹.

4.8.2.2. INTERVENCIÓN DE PRESIÓN ALTA DE ESTANCAMIENTO VENOSO [P] (2)

Se lleva a cabo la aplicación de presión controlada de 100 milímetros de mercurio (mmHg) con el uso del esfigmomanómetro aneroide manual (215-BK2006, Quirumed®, S.L., Valencia, España). Se monitoriza que la presión de 100 mmHg es menor a la presión arterial sistólica a través del pulso radial del antebrazo en el que se aplica la presión alta ⁶². Se sitúa 10 cm por encima del nivel a puncionar ¹. El tiempo de aplicación de presión no se ha establecido, empleando el mínimo tiempo necesario hasta lograr una canalización endovenosa periférica y la obtención de una muestra sanguínea.

Se ha elegido este recurso material por el fácil acceso del mismo en cualquier entorno de trabajo enfermero, sin coste adicional, y sin enseñanza previa, pues los enfermeros están familiarizados con su uso.

4.8.2.3. INTERVENCIÓN COMBINADA DE CALOR TÓPICO SECO Y PRESIÓN ALTA DE ESTANCAMIENTO [CAP] (3)

En primer lugar, se aplica el calor tópico seco según se realiza en la primera intervención y, transcurridos los 7 minutos, posteriormente se aplica la presión alta según se ha anunciado previamente.

Tras la aplicación de alguna de las tres intervenciones se vuelve a realizar la valoración de la percepción venosa VIA ¹² pero, a diferencia de la valoración en el inicio, pre intervención, en la valoración post intervención, se realiza a través de las intervenciones aleatorizadas; tal como se refleja en la figura 1.

4.8.3. COMPARADOR (C)

Se aplica el compresor elástico de látex proporcionado por el Hospital Universitario de La Princesa (Compresor sintético de látex, Unidix®, Madrid, España) y ha sido utilizado de acuerdo a CLSI GP41-A6 ⁴¹. Adicionalmente, en el caso de canalización endovenosa fallida con el empleo de alguna de las tres intervenciones mencionadas anteriormente, los siguientes intentos se han realizado con el empleo del comparador; se considera justificado por principios éticos y ser la técnica reconocida habitualmente. Por lo tanto, el comparador es empleado en tres momentos: en la percepción venosa según la escala VIA en el cumplimiento del criterio de no percibir un estadio I venoso del sujeto, en la asignación aleatoria en el periodo correspondiente según la secuencia aleatorizada, y tras canalización fallida al primer intento.

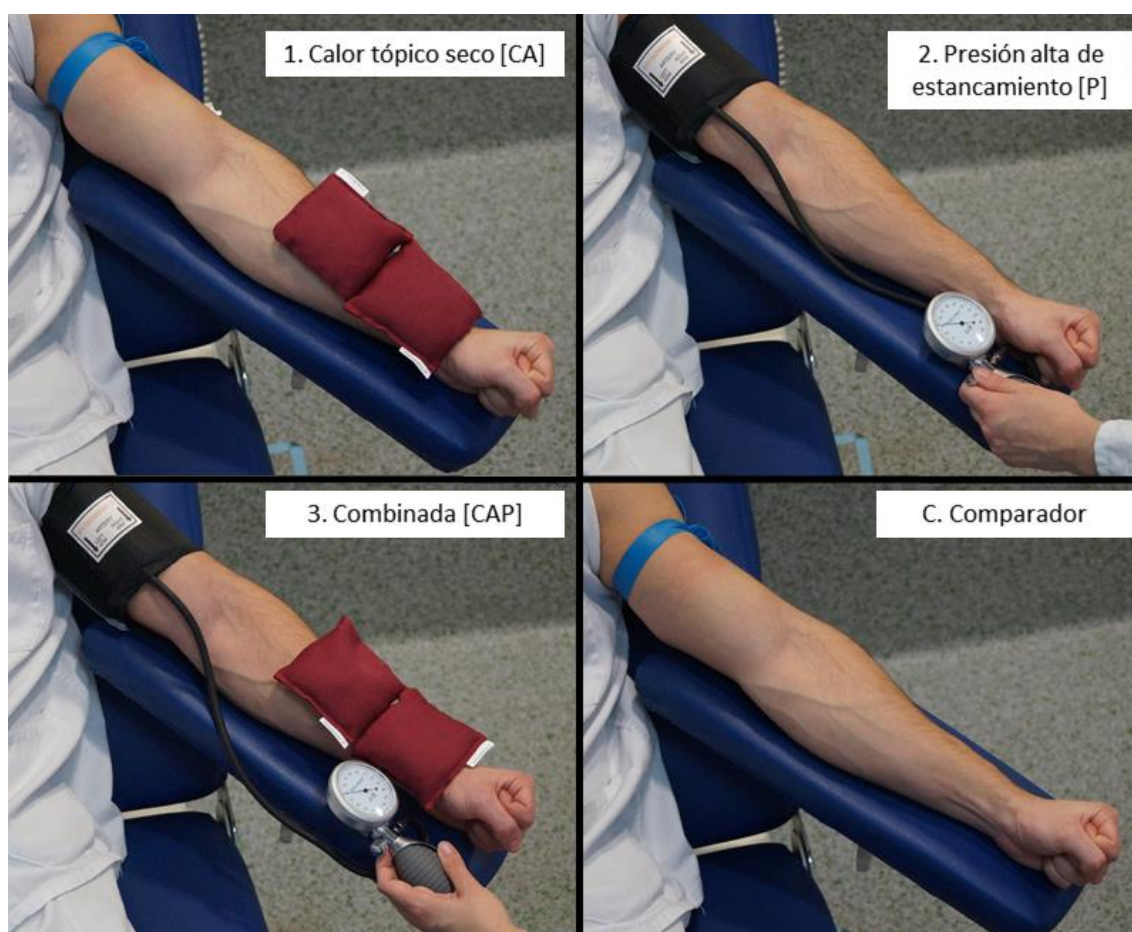


Figura 2. Ilustración de las tres intervenciones y el comparador. Elaboración propia.

4.8.4. HALLAZGOS CLÍNICOS

Posteriormente, tras la canalización endovenosa antebraquial exitosa o fallida a través de la intervención o comparador asignado y empleado, se lleva a cabo una valoración de hallazgos clínicos, en términos de: evaluación del dolor percibido a través de la escala EVA ⁶³, evaluación del tipo de piel a través de la escala de Fitzpatrick ⁶⁴ y la evaluación de hemólisis, descrita más adelante, de las muestras extraídas inmediatamente tras la canalización. Los hallazgos clínicos se realizan como se detallan a continuación en los dos periodos, como se refleja en la figura 1.

El dolor fue autoexpresado, por los sujetos tras la canalización, en un rango horario desde el primer intento éxito o fallido y hasta un máximo de 2 horas tras la canalización del primer intento a través del método asignado éxito o fallido. El tiempo máximo se considera justificado para evitar una disipación del dolor percibido en el tiempo. Dicho dolor se expresó como números enteros en un formato papel de escala numerada analógica visual (EVA) validada, de magnitud directamente proporcional ⁶³.

El tipo de piel según Fitzpatrick fue registrado por los sujetos en formato papel con indicación de observación en la cara anterior del antebrazo; justificado por la disminuida incidencia solar que pudiese sesgar la tonalidad de piel. Se consideró óptimo el uso de la escala por hallarse 5 de 6 fototipos validados en hombres y mujeres (a excepción del primero, por las características de la muestra accesible en el estudio de validación) ⁶⁵, y los seis en un estudio de población exclusiva de mujeres ⁶⁶; además de ser ampliamente utilizada en el ámbito de la dermatología ⁶⁴.

De la misma manera, los eventos adversos producidos se han registrado en un máximo de dos horas posteriores a la canalización y, por ende, aparición. Sin embargo, se han monitorizado durante el ingreso del voluntario hasta las 72h aproximadamente.

4.8.5. MEDICIÓN DE HEMÓLISIS

La medición de hemólisis se detalla a continuación y, en combinación, con la figura 3.

Cada muestra aislada de sangre se recogió en tubos de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) dipotásico o tripotásico (K2/K3) indistintamente. El plasma se obtuvo centrifugando (Hermle z326K, HERMLE Labortechnik GmbH, Alemania) cada muestra a 3400 revoluciones por minuto durante 10 minutos a 4°C, en un máximo de dos horas posteriores a la extracción sanguínea. Se trasvasó 0,5 ml de contenido plasmático al mayor número posible de tubos de 1,4 ml de volumen (Wilmut, W-2DPH 1.40 ml, Nirco, S.L., Barcelona, España).

Se realizan fotografías (SONY® SLT-α58, Tokio, Japón) con una configuración estándar para todas ellas reflejada en el apéndice A. Se realizan fotografías al contenido plasmático de 0,5 ml en cada tubo transparente, de base plana y de capacidad 1,4 ml, en una zona de exposición cerrada en sus cuatro superficies, con un orificio para introducir luz artificial de tipo *light-emitting diode* enfocado hacia el tubo, y otro orificio del diámetro del objetivo de la cámara para realizar la fotografía. Todas las fotografías fueron realizadas en el mismo soporte del mismo laboratorio por la investigadora principal, detallado en el apéndice A. Se recogió un máximo de 1 ml, a pesar de fotografiar 0,5 ml pues, posteriormente, se congelaron a -80°C durante 24h a 48h, establecido a través de la realización de un estudio piloto, detallado en el apéndice A, en el que se concluyó que no había diferencias significativas en los valores de absorbancia en muestras congeladas durante 24-48h a -80°C respecto a las mediciones en plasma sin congelar. Las muestras se descongelaron lentamente con agitador orbital (LICUOS Motion LC3000, Nirco, Madrid, España). Inmediatamente antes del análisis por espectrofotometría, los tubos con contenido plasmático se agitaron con vórtex (Vortex - Genie 2 SI-0236, Scientific Industries, Inc., Nueva York, Estados Unidos de América).

Se utilizó un NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, Estados Unidos de América), de amplio espectro ultravioleta-visible (190-840 nm). En cada muestra, se midió la absorbancia de la desoxihemoglobina en todo el espectro a través de 2 microlitros (μl) de plasma en un mínimo de 3 mediciones, por lo que se utilizó, al menos 6 μl de contenido plasmático. En primer lugar, se calibró el NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer con 2 μl de agua destilada en monodosis de 10 ml (Fresenius Kabi España, S.A.U., Barcelona, España), se realizó la medición y, una vez obtenida la unidad adimensional de absorbancia en el software NanoDrop 2000/2000c 1.6.198 Thermo Fisher Scientific Inc., se limpió con pañuelos desechables; se realizaron 3 mediciones. En segundo lugar, se procede a realizar las mediciones de cada muestra con 2 μl de plasma de una muestra de sangre aislada y se analizaron, repitiendo el proceso al menos 3 veces, limpiando con un pañuelo entre cada medición. Entre la tercera medición de una muestra y la primera medición de la siguiente muestra, la zona del NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer que se pone en contacto con la muestra se limpió con 2 μl de agua destilada y se realizaron 1 o 2 mediciones para corroborar que no había arrastre del análisis de una muestra con la siguiente.

En los casos en los que las 3 mediciones de absorbancia fueron muy diferentes, se realizaron hasta un máximo de 6 mediciones adicionales. Es decir, se realizaron mínimo 3 y máximo 9 mediciones de una misma muestra de plasma. El total de mediciones fueron exportadas al

programa Microsoft Excel®, se realizó la media aritmética con las selección de aquellas 3 mediciones más similares, eliminando los valores más extremos, tal y como se expone en el apéndice A.

Para cada medición, se aplicó un factor de corrección basal a 750 nm y, adicionalmente, el siguiente factor de corrección de lipemia en las longitudes de onda de máxima expresión de hemólisis: $(A_{414}-A_{385}) + 0.16 \times A_{385}$ ⁵⁷, establecido a través de una prueba piloto reflejada en el apéndice A.

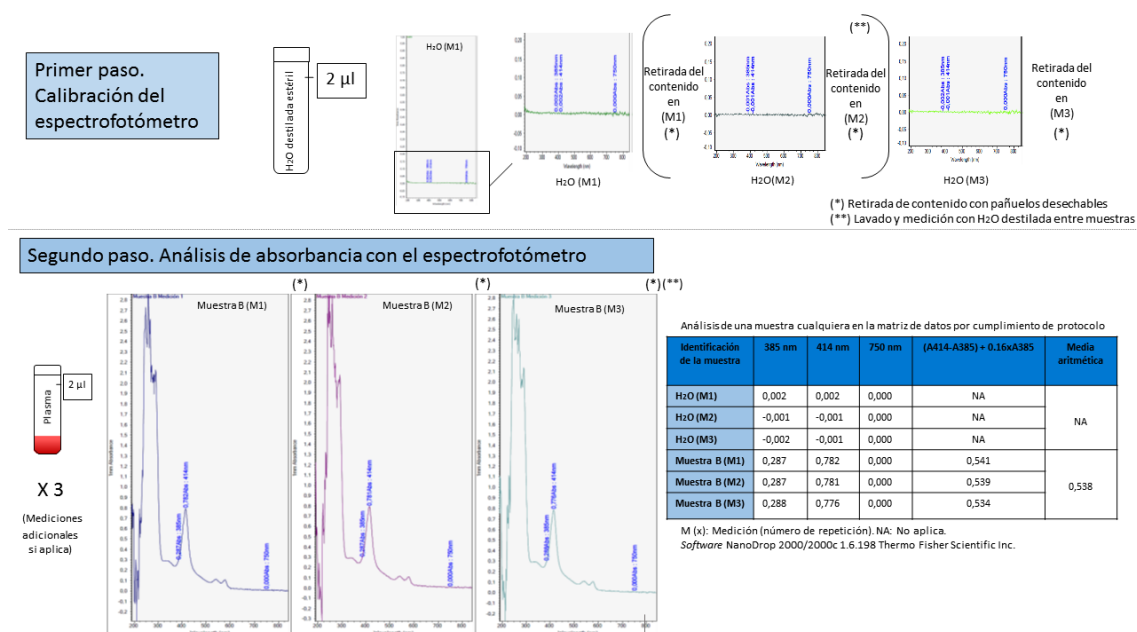


Figura 3. Manejo de la medición de hemólisis en espectrofotometría. Elaboración propia.

4.9. DESCRIPCIÓN DEL MANEJO VISUAL DE LA HEMÓLISIS

4.9.1. DETECCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL COLOR

En primer lugar, se llevó a cabo una detección de las características del color de aquellas fotografías realizadas, a través del programa Adobe Photoshop® CC 2016 (Adobe Inc., California, Estados Unidos de América) identificando, a lo largo de seis localizaciones establecidas comunes a todas las fotografías las características del tono en modelo de tono, saturación y brillo en Photoshop® (de la siglas en inglés de *Hue*, *Saturation* y *Brightness*), o reflejado en la literatura como tono, saturación y luminosidad (HSL, de las siglas *Hue*, *Saturation* y *Lightness*). Se establece un único valor del tono final calculado a través de la media aritmética de los valores detectados en las seis localizaciones, reflejado en el apéndice A.

El modelo HSL se enmarca en un sistema de doble cono, dos conos que se asientan sobre una misma base circular y cuyos vértices están alineados con el centro del círculo de dicha base. Los

vértices superior e inferior corresponden con la luminosidad, el blanco (100%) y el negro (0%) respectivamente. La distancia al eje corresponde con la saturación, cuya máxima intensidad de cada color se representa con el 100% y la mínima intensidad con 0% reflejado a través de una sombra gris, y el ángulo corresponde al tono del color. El tono reside a lo largo de la base del doble cono formando un círculo cromático, definido por tres valores primarios mediante su posición en el círculo. Como resultado, se forman un triángulo entre el rojo primario a 0°, el verde primario a 120° y el azul primario a 240°, volviendo al rojo cuando regresamos al origen del círculo a 360°. Se forman otros tres valores secundarios (sustractivos) entre los espacios del primer triángulo, dando lugar a un segundo triángulo: amarillo se sitúa a 60°, cian a 180° y magenta a 300°. Se generan matices intermedios mediante transiciones entre pares adyacentes de las posiciones de los colores primarios y secundarios (sustractivos), a lo largo del círculo cromático (naranja, turquesa, etc.). De ahí que la posición de los colores se pueda especificar en grados de ángulo (siendo el círculo completo 360°).

4.9.2. DISEÑO DE VERSIONES DE ESCALAS

En segundo lugar, se llevó a cabo la identificación de las características de tono, saturación y brillo, según el modelo HSL, a lo largo de las siete bandas puntuales del de la escala plasmada en el estudio de Plumhoff et al., considerada como panel de expertos en este estudio ³⁹. Tal y como se expone en el apéndice A, para la identificación de la saturación y brillo, se ha realizado a través del modelo HSL a lo largo del límite de la parte inferior (en el área de menor intensidad de color), al límite de la parte superior (en el área de mayor intensidad de color) de cada banda puntual de la escala del panel de expertos. En lo que refiere al tono, se identifica el valor en grados, según el modelo HSL, en seis localizaciones de cada banda, distribuidas de la siguiente manera: 2 localizaciones en los extremos superiores, 2 localizaciones en los extremos inferiores y 2 localizaciones en la zona central. Estas seis localizaciones de identificación del grado de color, se estandarizan a lo largo de las siete bandas puntuales de la escala del panel de expertos ³⁹, como se refleja en el apéndice A, se utilizan las seis localizaciones estandarizadas para la detección del tono en las fotografías de las muestras de plasma.

De tal manera que los límites, de menor a mayor valor de color detectado, sirven para delimitar los tonos de colores encontrados en las muestras del trabajo de campo, anteriormente mencionado, a lo largo del diseño de los 7 estadios de las escalas producto de este estudio. Se genera una tira de colores en cada versión de la escala en la que en su parte superior se exponen los datos numéricos de los tonos y, en la parte inferior, los valores de absorbancia correspondientes a cada muestra incluida en cada estadio según el tono de color que constituye

cada estadio. El conjunto de los colores construye una tira continua que ocupa 105 mm de alto por 287 mm de largo, con un margen de 52,5 mm en la parte superior como en la inferior y 5 mm en la parte derecha como izquierda en el que el color es blanco. En total, con los márgenes, la escala ocupa una superficie de 210 mm de alto, dónde se refleja la información del tono y absorbancia comentado anteriormente, y 297 mm de largo para poder ser adaptado a cualquier dispositivo en dimensiones de DINA4. Ante la incertidumbre del diseño para representar visualmente, de manera válida, el tono que adquiere el plasma según la hemólisis, se plantean tres versiones de escalas.

1. ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS TEÓRICA

Los siete estadios son elaborados por los tonos de color máximos y mínimos de cada uno de los tonos identificados en las fotografías de las muestras de plasma halladas en el trabajo de campo, y englobadas según los estadios elaborados como se refleja el apéndice A. Por lo tanto, en los valores intermedios, si alguno no se ha encontrado en el trabajo de campo, se ha estimado teóricamente en el rango de mínimo a máximo de valores observados. A los tonos de cada estadio, se les ha ajustado el brillo y la saturación de acuerdo a las identificadas en cada banda puntual de la escala del panel de expertos.

2. ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS REAL

Los siete estadios son delimitados por los tonos de color identificados en las fotografías de las muestras de plasma en el trabajo de campo englobado en cada estadio, ordenados de mayor a menor valor de tono. Los valores intermedios corresponden a valores observados en el experimento. Si alguno no se ha encontrado en el trabajo de campo, no se ha estimado. Sólo se reflejan los hallados. A lo largo de estos tonos, se les ajusta los parámetros de saturación y brillo, identificados en cada banda puntual del panel de expertos, como se refleja en el apéndice A.

3. ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS EMPÍRICA

Los siete estadios son delimitados por 5 fotografías de muestras de plasma halladas en el trabajo de campo, englobadas en cada estadio según el valor del tono, y ordenadas de mayor a menor valor dentro de cada estadio. No se ajusta la saturación ni el brillo a las imágenes, por considerar que éstas poseen dichas características inherentes al realizar las fotografías.

En las tres versiones, se establecen en común la información a reflejar en la parte superior e inferior de la tira de colores. Por lo tanto, lo que difiere entre las tres versiones, es la tira. De tal manera, se refleja la siguiente información a lo largo de dos líneas en la parte superior y otras

dos en la parte inferior a la tira de colores. Desde la parte superior a la inferior se refleja lo siguiente:

- Primera línea: grados del tono del color que delimitan cada estadio de las nuevas escalas, estimados a través de las bandas puntuales del panel de expertos. Estos límites de tonos de color se delimitaron por mínimo y máximo, cuyo mínimo del siguiente estadio corresponde al tono inmediatamente consecutivo al máximo del estadio precedente.
- Segunda línea: grados del tono de color encontrados en el trabajo de campo experimental que delimitan cada estadio de las nuevas escalas.
- Tercera línea: límites de absorbancia de hemólisis encontrados en el trabajo de campo experimental.
- Cuarta línea: media aritmética calculada a partir de los valores de los extremos de cada estadio hallados en el trabajo de campo (tercera línea).
- Quinta línea: desviación típica de las medias aritméticas.

En las tres versiones, todos los valores de espectrometría de las muestras de plasma recogidas en el trabajo de campo para el diseño en cada estadio fueron incluidas, y cuyos valores de absorbancias que delimitan los estadios, puntos de corte entre estadios se establecieron a través de medias aritméticas y desviaciones típicas para, tras la realización de pruebas estadísticas, establecer los límites. Estos límites corresponden a la ausencia de continuidad en la escala en el panel de expertos. Cada versión de la escala fue presentada en formato papel de 90 gramos y en formato electrónico en el monitor del ordenador.

Toda la información detallada anteriormente, en lo que refiere a: cada muestra de plasma identificada incluida en cada estadio, el tono, valor de absorbancia, los valores establecidos de saturación y brillo han sido incluidos en las notas de archivo del apéndice A. De la misma manera, las características de configuración del monitor del ordenador para la visualización adecuada de las versiones de la escala en formato electrónico se detallan en el mismo apéndice A.

4.9.3. PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LAS TRES ESCALAS Y FORMATOS

En tercer lugar, se detalla lo que refiere al proceso de prueba de validación del diseño de las versiones y, en combinación con la figura 4 y el apéndice A. Las muestras de plasma se recogieron aquellas que aseguraban un contenido mínimo de 150 μ l, considerado como mínimo suficiente para la observación a través del ojo humano. Se obtuvieron varios tubos de contenido plasmático, de los cuales, al menos uno se estandarizó en un volumen mínimo de 150 μ l y se identificó con una V en la parte superior de la pegatina en el tubo, donde no había plasma para no interferir en la visualización del color. El resto de contenido plasmático fue de reserva y dividido en tantos tubos posibles para garantizar muestras de reserva en caso de necesitar mediciones adicionales sin necesidad de realizar varios ciclos de congelación y descongelación, y asegurando un mínimo de 6 μ l en cada uno, suficiente para el análisis de espectrofotometría.

En cuarto lugar, se llevó a cabo la inspección visual dos veces en cada formato y versión de la escala, la primera vez conocida como *test* y la segunda vez como *re-test*. El *test* se realizó en el mismo día tras la extracción sanguínea y, una vez finalizada la inspección del *test* por dos observadores, se congelaron a -80°C hasta pasadas 24-48h. Posteriormente, se descongelaron, y los mismos dos observadores del *test* procedieron al *re-test*. Por último, fueron medidas en espectrofotometría como se ha comentado anteriormente. Por lo tanto cada muestra de plasma es observada 8 veces. Los dos observadores fueron los mismos en cada versión y formato y, entre los formatos en el *test* las muestras fueron identificadas con una pegatina de color blanco en la primera evaluación con números y en la segunda se adhieren las pegatinas con letras sobre las anteriores para evitar un efecto de arrastre entre formatos, y de la misma manera en el *re-test*. Las pegatinas se adhieren una sobre otra, en lugar de quitar la primera, para evitar pérdidas por fallos en la identificación en el *re-test* por desprendimiento de la pegatina a causa de una temperatura extremadamente baja de -80 °C. En las observaciones, se estableció un tiempo máximo de un minuto por tubo, las tandas de los tubos fueron estandarizadas con un mínimo de 6 y máximo de 15 por considerarse 6 tubos suficiente para no recordar la puntuación del primer tubo al comenzar en *test* del segundo formato, y 15 para no aumentar una carga de trabajo excesiva a los observadores y al responsable de espectrofotometría. De tal manera, el tiempo fue establecido en cómputo total de acuerdo al número de tubos en cada tanda, y fue controlado por la investigadora principal.

La luz del lugar de observación de las versiones de las escalas, se estandarizan en luz artificial y la posición de evaluación tanto de las escalas sobre el monitor como de los observadores se armoniza en frente del monitor del ordenador del laboratorio. De tal manera, se estandariza la

4. MATERIAL Y MÉTODOS

incidencia de la luz sobre las escalas y la posición de los observadores es sentados en todas las ocasiones. En soporte papel, se deposita sobre el monitor y, en soporte electrónico, se enciende el monitor. Adicionalmente, la zona de inspección visual es delimitada por el monitor, y se habilita a los observadores que pueden manipular la escala en papel sin exceder el perímetro de la posición específica de la pantalla.

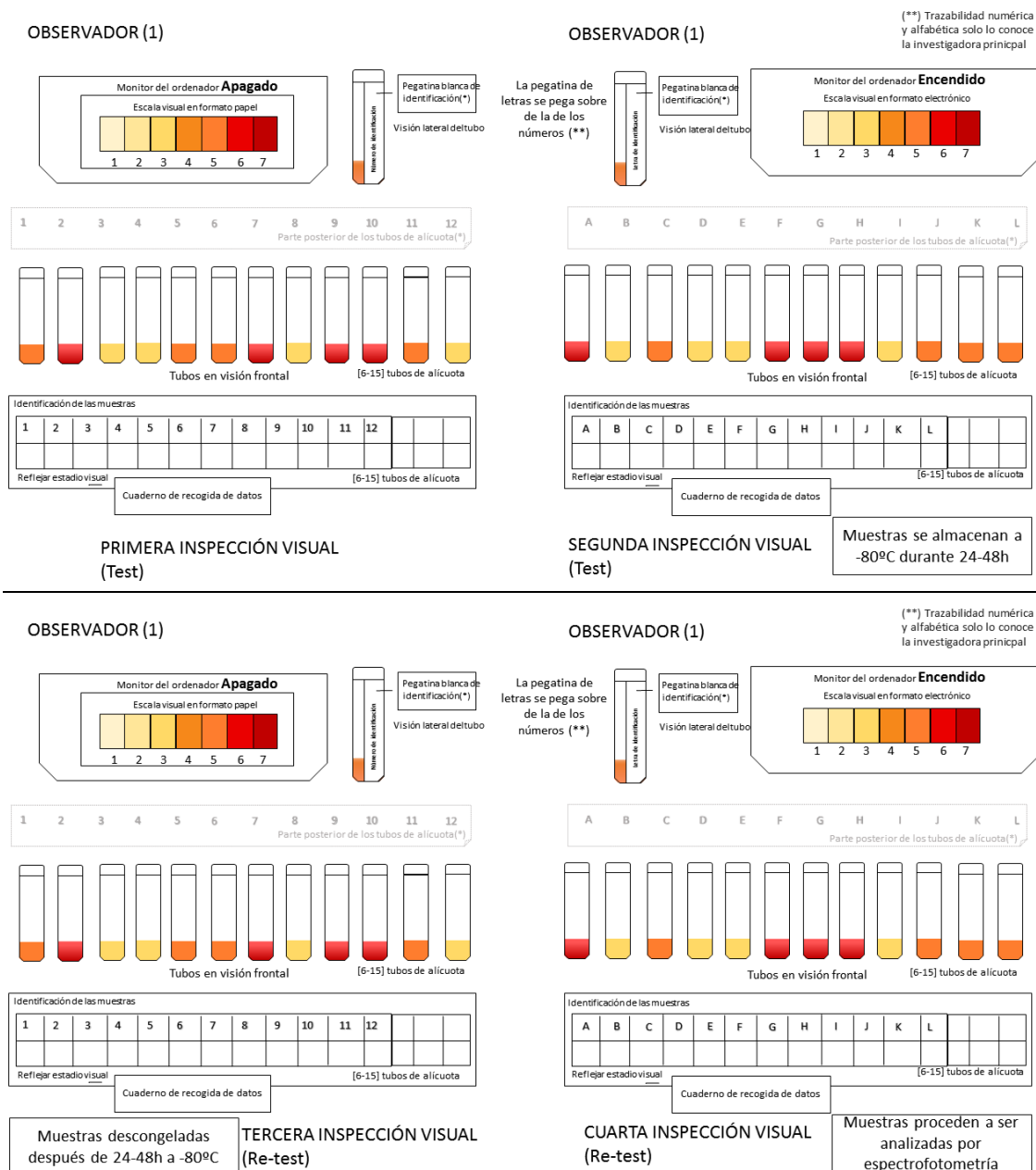


Figura 4. Manejo de la inspección visual y enmascaramiento en la prueba de validación.
Elaboración propia

No se considera pertinente el abordaje de múltiples muestras sanguíneas, salvo excepciones justificadas por estadios por cuotas, en un reducido número de sujetos común entre escalas,

pues se considera necesario una variabilidad biológica moderada la cual permita una extrapolación de los resultados a la población general.

4.10. CÁLCULO DE TAMAÑOS MUESTRALES

Se llevan a cabo tres cálculos de tamaños muestrales para cada fase del estudio.

4.10.1 PRIMER ESTUDIO EXPERIMENTAL DE TRES INTERVENCIONES Y COMPARADOR

Se realiza el cálculo muestral con la calculadora GRANMO®⁶⁷. Se asume un riesgo aleatorio (alfa) del 5% y una potencia estadística (beta) del 80%; para lo que se pretende probar la veracidad de la hipótesis nula, de tipo bilateral.

- H0: La frecuencia de casos en venopunción antebraquial exitosa al primer intento no se ve afectada por alguna de las tres intervenciones aplicadas.
- H1: La frecuencia de casos en venopunción antebraquial exitosa al primer intento se ve afectada por alguna de las tres intervenciones aplicadas.

Se ha registrado, en la literatura, el éxito de canalizaciones endovenosas periféricas al primer intento, a través de técnica habitual, en un 74% de los casos¹⁷. En la actualidad, se ha registrado una proporción de canalización endovenosa periférica al primer intento del 73%, de manera ecoguiada²⁰. En relación al segundo intento exitoso, en la práctica clínica habitual asciende a un 92% de los casos y, en la ecoguiada a un 91%^{17,20}.

Para el presente trabajo, se pretende conseguir un 95% de éxito en la canalización venosa antebraquial al primer intento. Así, superar con alguno de los métodos alternativos propuestos en este estudio la proporción acumulada incluso, al segundo intento de la práctica clínica habitual y ecoguiada, entendiendo ésta como clínicamente relevante.

Puesto que los grupos serán pareados, a cada sujeto se le aplica el método comparador y una de las intervenciones, disminuyendo la variabilidad intraindividual pero aumentando el riesgo de pérdida de sujetos entre el primer periodo y el segundo. Se considera, a raíz de la experiencia, que de los 12 individuos de un grupo, a lo sumo, uno de ellos se pierde, por lo que se estima un 12% de pérdidas aproximadamente. Por lo tanto, se procede al cálculo del tamaño muestral a través de la modalidad de proporciones, medidas apareadas (repetidas en un grupo). Fijando en la proporción con acontecimiento pre-intervención 0,74, en la proporción con acontecimiento post-intervención 0,95, y proporción prevista de pérdida un 0,12. Finalmente, el tamaño muestral estimado es de 60 sujetos, asumiendo las pérdidas y un mínimo de 53 sujetos sin pérdidas.

4.10.2. PRIMERA FASE DEL SEGUNDO ESTUDIO EXPERIMENTAL DE DISEÑO DE LAS ESCALAS

Según un estudio ⁵⁶ relativo a un punto de corte de evaluación de hemoglobina libre en plasma a través de absorbancias y detección visual, se expone lo siguiente: de quince muestras detectadas con absorbancias, ocho de ellas no fueron detectadas visualmente. Es decir, la inspección visual cursa con una predicción positiva (VPP) del 46,6%. Se pretende probar la veracidad de dicho supuesto y para ello se plantea la siguiente comprobación de hipótesis, de tipo bilateral:

- H0: La predicción positiva de intensidad de hemólisis a través de estadios visuales no es óptima.
- H1: La predicción positiva de intensidad de hemólisis a través de los estadios visuales es óptima.

Se ha llevado a cabo un cálculo muestral con GRANMO® ⁶⁷ en la modalidad de proporciones observada respecto a una referencia. Con un error alfa de 5% y una potencia de 1%, test bilateral. La proporción de referencia es 0,466 ⁵⁶ y el objetivo es alcanzar una predicción positiva de al menos 0.80; se considera óptima para detectar la intensidad de hemólisis en cada estadio. Por lo tanto, la diferencia mínima a detectar se obtiene a través del objetivo de 0,80 – 0,466, es decir, 0,334. Finalmente se obtiene que se necesitan, al menos, 41 individuos o, lo que es lo mismo, 49 muestras sanguíneas con una proporción prevista de pérdidas del 20%, que corresponderían con posibles muestras con contenido sanguíneo insuficiente para su inspección. Por lo tanto, en cada estadio se necesitan un mínimo de 6 muestras de plasma sin pérdidas.

Como resultado de un tamaño muestral menor en la primera fase del segundo estudio experimental que en el primer estudio experimental, esta fase fue abordada de manera simultánea al ensayo clínico con productos sanitarios. Es decir, los individuos incluidos en el ensayo clínico fueron compartidos para el uso de sus muestras sanguíneas en el diseño de las escalas.

4.10.3. SEGUNDA FASE DEL SEGUNDO ESTUDIO EXPERIMENTAL DE PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LAS VERSIONES

Se ha llevado a cabo un cálculo muestral con GRANMO® ⁶⁷ en la modalidad de proporciones observada respecto a una referencia. Con un error alfa de 5% y una potencia de 80%, test unilateral. La proporción de referencia es 0,466 en un estudio en el que, de 15 muestras identificadas con presencia de hemólisis a través de espectrofotometría, 8 de ellas no fueron detectadas visualmente y 7 sí pudieron ser detectadas a través del ojo humano ⁵⁶. El objetivo es alcanzar una predicción positiva de al menos 0,85; cifra considerada óptima para detectar la intensidad de hemólisis en cada estadio.

- H0: La predicción positiva de intensidad de hemólisis a través de estadios visuales no es óptima $< 0,70$.
- H1: La predicción positiva de intensidad de hemólisis a través de los estadios visuales es óptima de al menos 0,85.

Por lo tanto, la diferencia mínima a detectar se obtiene a través del objetivo de 0,85 - 0,466, es decir, 0,384. Finalmente se obtiene que se necesitan, al menos, 9 muestras o, lo que es lo mismo, 10 muestras sanguíneas por estadio, con una proporción prevista de pérdidas del 10%, que se corresponde con posibles muestras con contenido sanguíneo insuficiente para su inspección. Por lo tanto, se necesitan 63 muestras sanguíneas por escala, o bien, 70 muestras sanguíneas por escala introduciendo las pérdidas. De manera que, se necesitan un mínimo de 9 muestras de plasma por estadio de cada versión de cada escala sin pérdidas. En esta segunda fase del segundo estudio experimental, los voluntarios adultos sanos incluidas sus muestras de plasma fueron diferentes a los participantes en el diseño.

4.11. RECOGIDA Y SELECCIÓN DE CASOS

La recogida de los datos en los dos estudios experimentales fue llevada a cabo, principalmente, por la investigadora principal. Adicionalmente, otros colaboradores fueron habilitados para la recogida de la información en los documentos fuente tras ser formados previamente en las funciones de cada profesional en el presente ensayo clínico; cuyo cometido recae exclusivamente en la investigadora principal del presente estudio. Por lo tanto, en el primer estudio experimental, los enfermeros colaboradores fueron formados previamente y registrados sus nombres, fecha de la formación y firma del colaborador. De la misma manera, el personal con función de procesamiento de las muestras sanguíneas, trasvase del contenido plasmático en un laboratorio y de medición de espectrofotometría en otro laboratorio diferente, fueron formados previamente, atendiendo a los pasos enunciados anteriormente. Asimismo, en

la fase de prueba de validación de escalas, los observadores fueron seleccionados según titulación, experiencia previa en el laboratorio con muestras sanguíneas de plasma y procesamiento de muestras, y por último, disponibilidad en tres momentos del día para participar en el estudio. Aquellos observadores que cumplieron con los mencionados criterios de inclusión y ninguno de exclusión, por defecto, fueron formados previamente en las versiones de las escalas que se encontrarían, el registro de los datos y la logística del trabajo de campo estimado; se registró su nombre, titulación, fecha de formación y firma. Se establecieron observadores principales y de reserva para, en primera instancia, realizar la prueba de validación con los principales para reducir la variabilidad interindividual, fueron seleccionados por una mayor experiencia y mayor disponibilidad.

Los cuadernos de recogida de datos (CRDs) fueron elaborados previamente por la investigadora principal para ambas fases del presente ensayo clínico. En cada cuaderno de recogida de datos se anonimizó a cada individuo a través de un código numérico de dos dígitos. En las muestras plasmáticas, se identificó con un código de uno a cuatro dígitos en orden cronológico de obtención de muestras anónimas.

En todas las fases del presente estudio de investigación se elabora una matriz de datos por cumplimiento de protocolo. Como producto, se eliminan casos por desviaciones de protocolo y otras alteraciones confundentes no previstas en el protocolo. Adicionalmente, se eliminaron muestras de plasma adecuadas por balanceamiento entre estadios a través de una aleatorización con el programa de Microsoft Excel® de tantos números como frecuencia de muestras necesarias a eliminar en cada estadio, reflejado en el apéndice A.

4.12. DESVIACIONES DE PROTOCOLO Y POTENCIALMENTE CONFUNDENTES

La matriz de datos analizada ha sido elaborada por cumplimiento de protocolo. Por lo tanto, aquellos individuos en que se sucediesen algunas de las siguientes situaciones, fueron considerados desviaciones de protocolos y, por lo tanto, excluidos de la matriz de datos.

En aplicación de la intervención de calor tópico seco (1):

- Cuando no se alcanzó o se excedió el tiempo de aplicación de calor de 7 minutos.
- Cuando al menos una bolsa de las semillas se desprende y no se vuelve a su posición anterior en menos de 1 minuto, o no fue posible estimar cuánto tiempo no estuvo en su posición inicial.

En la intervención de presión de estancamiento alta (2):

- Cuando la presión ejercida con el esfigmomanómetro fue inferior a 100 mmHg, ya sea antes de la punción venosa o de la extracción inmediata de la muestra de sangre.

En la intervención combinada (3):

- Cuando se dieron alguno de los tres casos comentados en la intervención 1 y/o en la 2.

Canalización periférica intravenosa (variable primaria):

- Cuando el antebrazo difiere entre el primer y el segundo periodo, con o sin justificación clínica. Se consideró clínicamente justificado cuando una enfermera decidió que el cateterismo venoso debía realizarse en el antebrazo diferente del registrado en el primer periodo, por principios éticos debido a la ínfima posibilidad de éxito de canalización en el brazo del primer periodo. A pesar de la justificación enfermera fue excluida del análisis de datos.
- Cuando se llevó a cabo la canalización, pero no fue posible la extracción sanguínea con Vacutainer™.
- Cuando una muestra sanguínea se extrae con jeringa.

En lo que se refiere a la hemólisis, no se registraron circunstancias que pudiesen alterar el análisis y la visualización de las muestras, por lo que no figuran en el protocolo y no constan como desviaciones de protocolo. Sin embargo, se han considerado las siguientes circunstancias como potencialmente confundentes de dichos análisis por consenso de la investigadora principal y colaboradores figurantes en el protocolo:

En el análisis de hemólisis en las intervenciones:

- Cuando una muestra de sangre requirió una segunda centrifugación, la muestra no se analizó y no se extrajeron más muestras de ese sujeto, debido a la falta de posibilidad de hacer comparaciones de magnitud de hemólisis debido a la aplicación de alguna de las tres intervenciones y el comparador sin el factor de una segunda centrifugación y el impacto de la caída de la muestra sanguínea frente al suelo en el aumento de hemólisis en el plasma.

En la inspección visual:

- Cuando se ha considerado problemas de logística en el Servicio para la inspección visual. Como ejemplo, interferencias de un compañero a un observador en el momento de la evaluación.
- Cuando una muestra, sometida a una descongelación lenta con agitador orbital, mantiene una descongelación parcial.

- Cuando una muestra sanguínea contienen un plasma “denso” susceptible de potencial lipemia.
- Cuando una muestra sometida a congelación instantánea con hielo seco y alcohol al 70% (*flash-freezing*) por el protocolo con medicamentos y, visualmente está congelada en el momento de la inspección.
- Cuando las fotografías contienen “ruido” en la imagen o las características de la cámara no son respetadas.
- Cuando el tono detectado en una imagen se encuentra entre dos estadios de la escala del panel de expertos. Ante la incertidumbre en el diseño, se excluye.
- Cuando se presupone que una muestra no ha sido etiquetada con la pegatina de la letra correspondiente en el cegamiento y no se correlaciona con el valor de absorbancia.

En el análisis en espectrofotometría:

- Cuando se ha considerado problemas de logística en el Servicio para la inspección visual. Como ejemplo, interferencias de un compañero al biólogo colaborador en el momento de la medición de absorbancia.

En relación a las desviaciones de protocolo y factores, o situaciones, potencialmente confundentes reflejado anteriormente, están señalados en cada caso correspondiente en el apéndice A.

4.13. VARIABLES

Las variables examinadas para el cumplimiento de los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, fueron dicotómicas y nominales clasificadas en términos de “normal” o “anormal sin relevancia clínica” en el examen físico y evaluación de electrocardiograma. Las variables empleadas y, que por tanto, rigen el análisis del presente ensayo clínico, se exponen en la siguiente tabla (tabla 1).

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla 1. Definición, características y expresión de las variables.

DEFINICIÓN	CARÁCTER	EXPRESIÓN
VARIABLE PRIMARIA		
Canalización endovenosa al primer intento	Cualitativa dicotómica	Si / no
VARIABLES SECUNDARIAS		
Frecuencia de canalización exitosa	Cuantitativa discreta	En número de intentos 1,2,3 o 4
Miembro superior (MS) de canalización	Cualitativa nominal	MS Derecho o MS Izquierdo
Zona anatómica antebraquial de canalización	Cualitativa nominal Variable estratificadora	Se expresa en discreta de 1: antebrazo distal, 2: medial, 3: distal o 4: flexura
Edad	Cuantitativa continua	Se expresa en discreta en años
Sexo	Cualitativa nominal	Mujer / hombre
Raza	Cualitativa nominal	Expresado en discreta de 1: caucásico, 2: negra, 3: Asiática o 4: Latina
Tensión arterial media (TAM)	Cuantitativa continua	En milímetros de mercurio (mmHg)
Frecuencia cardíaca	Cuantitativa continua	En latidos por minuto
Temperatura timpánica	Cuantitativa continua	En grados Celsius (°C)
Índice de Masa Corporal (IMC)	Cuantitativa continua	En kilogramos por metro cuadrado(kg/m ²)
Magnitud de percepción venosa en escala VIA	Cuantitativa discreta	En estadios de mejora a menor percepción 5,4,3,2 o 1.
Magnitud de dolor en escala EVA	Cuantitativa discreta	En puntuación de menor a mayor 0,1,2,3,4,5,6,7,8,9 o 10.
Tipo de piel en escala Fitzpatrick	Cuantitativa discreta	En estadios 1,2,3,4,5 o 6.
Causalidad de eventos adversos	Cualitativa ordinal	Se expresa en discreta 1,2,3,4,5 o 6.
Gravedad de eventos adversos	Cualitativa ordinal	Se expresa en discreta 1,2,3 o 4
Medida realizada tras eventos adversos	Cualitativa nominal	Se expresa en discreta en 1: supervisión y 2: retirada.
Magnitud visual de hemólisis	Cuantitativa discreta	En estadios 1,2,3,4,5,6 o 7
Tono de color	Cuantitativa discreta	En grados 55° [...]360°
Saturación de color	Cuantitativa discreta	En porcentaje de 0 [...]100%
Brillo de color	Cuantitativa discreta	En porcentaje de 100% [...]0%
Absorbancia de hemólisis	Cuantitativa continua	En unidades adimensionales 0,000 [...] 2,585
Identificación del momento de extracción de muestras	Cualitativa nominal	Se expresa en basal, vespertina o nocturna.

En la variable de percepción venosa según la escala VIA, el cambio de, al menos, un estadio fue considerada clínicamente relevante. De la misma manera, en la evaluación del dolor percibido cualquier alivio de dolor se consideró relevante por ser un componente evitable, de tal manera que no se estableció un punto de corte según la escala EVA numérica, debido al umbral de dolor individual, y se consideró clínicamente relevante los valores de alivio del dolor de, al menos, un grado.

4.14. ENMASCARAMIENTO

En el primer estudio experimental no se pudo enmascarar las intervenciones hacia el sujeto por percepción térmica del calor tóxico seco y percepción de la presión ejercida con el esfigmomanómetro. Tampoco fue posible el enmascaramiento de las intervenciones aplicadas para la evaluación de la percepción endovenosa periférica a través de la escala VIA, enfocada hacia los enfermeros por necesidad de colaboración enfermera en la aplicación de las intervenciones en el trabajo de campo en un tiempo estipulado de canalización endovenosa antebraquial de doce individuos en 30 minutos aproximadamente, y la factibilidad del manejo de aplicación de las intervenciones por cualquier enfermero de diversa experiencia y destreza.

Sin embargo, el análisis de espectrofotometría de las muestras sanguíneas de plasma fue enmascarado del método aplicado (intervención o comparador aleatorizado). De tal manera, que al biólogo no se le proporcionó la información relativa al método aplicado y el contenido plasmático fue evaluado en un laboratorio diferente al laboratorio de procesamiento de muestras biológicas y sala de fase I.

Adicionalmente, la prueba de validación de escalas ha cursado con una confidencialidad de los valores adjudicados por los observadores en cada muestra. Se ha controlado la no confluencia entre observadores de una misma tanda en el mismo laboratorio y el intercambio de opiniones. Las versiones en el soporte papel han sido proporcionadas únicamente por la investigadora principal y suministradas específicamente para su evaluación, no se les ha proporcionado a los observadores previamente al estudio, ni durante el mismo un tiempo adicional al estipulado para la inspección visual. Se generan dos sobres por escala, uno identificado como “Papel” y otro como “Electrónico”, así cada observador introduce la hoja de cuaderno de recogida de datos (CRD) correspondiente al análisis realizado antes de proceder al segundo análisis, evitando la posibilidad de recurrir a lo registrado en un formato. Igualmente, la investigadora principal, deposita las versiones de las escalas en papel en la pantalla del monitor apagada y, finalizada la evaluación, las guarda en un sobre bajo llave de acceso único. Posteriormente, se enciende la pantalla del monitor y se habilita el formato electrónico a través de una contraseña de acceso único a la investigadora principal para asegurar que no se realiza una consulta previa a la inspección visual de las escalas, ni durante el mismo un tiempo adicional al estipulado para la inspección visual y, por lo tanto, al finalizar la investigadora principal cierra el documento sin posibilidad de consulta sin introducir la contraseña. Adicionalmente, la investigadora principal ha cegado las muestras hacia los observadores del primer momento de inspección visual (*test*)

al segundo momento (*re-test*) a través de una trazabilidad numérica y alfabética, y así evitar un sesgo de recuerdo.

4.15. CONSIDERACIONES LEGALES, ÉTICAS Y CALIDAD

El presente estudio de investigación se enmarca en la legislación española en lo que refiere a los sujetos incluidos en la investigación y a las muestras biológicas aisladas destinadas a la investigación.

Los principios éticos, metodológicos y de protección de los sujetos se rige por lo contemplado en el Boletín Oficial del Estado (BOE) 307 *Real Decreto 1090/2015, de 4 de Diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos* a través del cual se amparan los derechos de respeto, beneficencia, no maleficencia y justicia, prevaleciendo sobre cualquier otro interés ⁶⁸. Por lo tanto, en adherencia a la regulación mencionada, el estudio de investigación (versión 1.0) ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm) del hospital en el que se ha desarrollado el trabajo de campo en el acta 12/17 con código de registro interno 3113 y código ECYPVEN-H/17, antes de realizar ningún procedimiento, (anexo I).

De la misma manera, se salvaguardarán todos los principios contemplados en la declaración de Helsinki, aplicables a la investigación y competencia enfermera, (anexo II).

El presente ensayo clínico con productos sanitarios se ha considerado de bajo nivel de intervención, de acuerdo a la definición establecida para este tipo de ensayos por el *Real Decreto 1090/2015* ⁶⁸. Como consecuencia de considerar como mínimos los riesgos atribuibles al presente ensayo clínico, comparados con los atribuibles a los de la práctica clínica habitual, en el capítulo III artículo nueve de *indemnización por daños y perjuicios* ⁶⁸, se considera que no es necesario el contrato de un seguro específico para el presente ensayo y que queda respaldado por el seguro del ensayo clínico de bioequivalencia sobre los cuales se ha desarrollado el presente estudio de investigación.

Así mismo, los productos sanitarios utilizados en el presente estudio se consideran activos de acuerdo al *Real Decreto 1616/2009, de 26 de octubre, por el que se regulan los productos sanitarios implantables activos* ⁶⁹.

Se garantiza la adherencia a la *Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal*⁷⁰, codificando la filiación de los voluntarios. El documento donde figura la trazabilidad de los sujetos y el código son confidenciales a personal externo a la promotora e investigadora principal del presente ensayo y el del medicamento. Los datos se plasman en un documento que permanece en la Unidad de Ensayos Clínicos del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa desde el inicio del ensayo hasta 25 años después.

De la misma manera, según lo establecido en *Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica*⁷¹, aquellas muestras sanguíneas que han sido recogidas en el ensayo clínico para el diseño de las versiones de las escalas y, los datos de los individuos originarios, han resultado codificados, ha cursado con una hoja de información y consentimiento informado firmado con casilla expresa para el análisis exclusivo de tinción del plasma, sin fines adicionales. Sin embargo, según la misma ley, en la fase de validación, las muestras han sido anónimas de los sujetos fuente, por lo que se desestimó un consentimiento informado firmado expreso, tal y como se refleja en el apéndice B del compromiso por parte de la promotora e investigadora principal. En ambos casos, el contenido plasmático ha sido recogido del sobrante de muestras sanguíneas justificadas por el ensayo clínico de bioequivalencia partícipe del individuo cuyo consentimiento informado fue firmado previamente. Además, las muestras para el diseño no excedieron 1 ml y, en ambas fases las muestras fueron desechados a un contenedor de material biológico y destruidos según el procedimiento establecido por el ensayo con medicamento en el que el voluntario concedió su conformidad.

Las notificaciones de inicio del ensayo clínico, inclusión del primer individuo, el seguimiento del último individuo y el fin del trabajo de campo de toda las fases de la presente investigación son notificadas a las entidad involucradas; es decir, CEIm con notificaciones y seguimiento del estudio, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) con el anuncio de la existencia del ensayo clínico, y, tras la secuencia de respuesta a una cadena de mensajes por parte de la AEMPS de productos sanitarios, la comunicación de fin del trabajo de campo fue notificado al CEIm y a la Universidad Complutense de Madrid. Por último, el informe final se remitió al CEIm.

En lo que refiere a la aparición de eventos adversos graves e inesperados quedan amparados por la póliza de seguro del ensayo con medicamento, un seguimiento de 72h, aproximadamente por la investigadora principal del presente estudio y la notificación del mismo a la investigadora principal del ensayo clínico de bioequivalencia; garantizando que la información fuese emitida a

la AEMPS. De otra manera, en eventos adversos fueron registrados y supervisados tal y como se ha mencionado anteriormente con la notificación al ensayo con medicamento pero sin notificación a las instituciones ⁷². El algoritmo de causalidad y gravedad utilizado fue el propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) ⁷³.

En lo que refiere a la calidad, los consentimientos informados son escritos tanto el nombre del responsable de la reunión informativa como el del partícipe, firmados y fechados con puño y letra del voluntario. La calidad de los procedimientos realizados, la promotora e investigadora principal, así como todos los colaboradores del presente ensayos llevaron a cabo todos los procedimientos acorde a las buenas prácticas clínicas para investigadores y, adicionalmente, los colaboradores involucrados en el procesamiento, inspección visual y análisis de espectrofotometría acorde a la regulación del manejo de muestras biológicas de *International Air Transport Association* no infecto-contagiosas de la categoría B UN 3373. Adicionalmente, el resto de procedimientos fueron estandarizados a través de los procedimientos normalizados de trabajo vigentes en el 2017 y 2018 de la Unidad de Ensayos Clínicos del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa.

Adicionalmente a la metodología utilizada para llevar a cabo el ensayo clínico, se siguieron las reglas *Consolidated Standards of Reporting Trials* “Para ensayos que evalúan tratamientos no farmacológicos” ^{74,75}. De la misma manera, en la metodología utilizada para llevar a cabo la validación de la escala se respalda a través de la guía de estudios de precisión diagnóstica *Standards for the Reporting of Diagnostic accuracy studies* ⁷⁶.

4.16. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos fueron tratados y analizados a través del paquete estadístico SPSS® v23.0 (IBM Corp., Armonk, Nueva York, Estados Unidos de América) y, adicionalmente, el programa XLSTAT de Microsoft Excel®, fue utilizado para el análisis de la validez predictiva de las escalas. Los resultados fueron expresados en incidencias acumuladas (IA) y en Odds-Ratio (OR) en intervalo de confianza al 95% (IC95%).

Inicialmente, se lleva a cabo análisis univariantes y, las variables con $p < 0,05$ en los análisis univariados se incluyen en un modelo multivariante. La distribución anormal se confirmó con la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Para datos no paramétricos, tales como variables emparejadas dicotómicas, se utilizó la prueba de Mc Nemar y para las pruebas cualitativas no emparejadas prueba de la χ^2 , a menos que haya menos de cinco elementos en algunas casillas y superen el 20% del total, en cuyo caso, se aplica la razón de verosimilitud o

test de Fisher. Para las variables pareadas cuantitativas no paramétricas se utilizó la prueba de Wilcoxon, tanto para el antes y después como en la estratificación en los grupos de intervención con el comparador. En el análisis multivariante se realizó un modelo binario de regresión logística para variables dicotómicas no paramétricas con variables de más de dos categorías como el grupo de intervenciones, se transformaron en variables *dummies*.

El OR se determinó de acuerdo con la siguiente fórmula ajustada por ausencia de fallos en el empleo de las intervenciones y hallar un 0 en una casilla: $OR = (\text{casos de efectividad o eventos adversos en uno grupo} / \text{casos de efectividad o eventos adversos en otro grupo})$. Sin embargo, en la regresión logística binaria el cálculo del OR fue a través de la fórmula estándar. Las características basales fueron: edad, sexo, raza, índice de masa corporal, presión arterial media, temperatura timpánica, frecuencia cardíaca y tipo de piel. Las variables clínicas comparadas entre grupos incluyeron: efectividad, zona anatómica de la intervención, percepción venosa, percepción del dolor, hemólisis y aspecto de la piel. Un valor de p bilateral inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo. Para calcular la correlación y la asociación entre dos variables cuantitativas no paramétricas, se utilizó una correlación de Spearman (ρ con $p < 0,05$).

Adicionalmente a las pruebas estadísticas mencionados anteriormente, el análisis de la fiabilidad inter e intraobservador se llevó a cabo a través del índice de Kappa Cohen, entendiéndose aceptable $\geq 21\%$ según según Landis y Koch⁷⁷. La fiabilidad de las mediciones del instrumento se comprobó a través de un coeficiente de correlación intraclass (CCI) $\geq 70\%$.

Como producto de los siete estadios que construyen la escala y los 21 pares de combinaciones resultantes, se realizó un ajuste del alfa fijado a 0,05 y se obtuvo un alfa ajustado significativo a $p < 0,002$ a través de la prueba de Bonferroni. La consistencia interna de heterocedasticidad entre los estadios que elaboran la escala, de acuerdo con la magnitud de hemólisis que representa cada estadio fue examinado a través de un test no paramétrico de Kruskal-Wallis. En el análisis de la validez, no fue empleada ninguna prueba estadística la validez de apariencia. La validez de contenido se examinó a través del test de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) ($\geq 0,70$) y un test confirmatorio de unidimensionalidad a través de la prueba de esfericidad de Bartlett. Por último, la validez de criterio concurrente del *test* y predictivo del *re-test*, fue evaluada a través de concordancias (C) globales en cada versión y formato de la escala y, cuando alcanzan un valor $\geq 0,70$, se lleva a cabo el análisis en cada estadio individualizado de sensibilidad (S), especificidad (E), tasa de falsos positivos (TFP), tasa de falsos negativos (TFN), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) $\geq 0,70$, prevalencia, razón de verosimilitud

negativa (LR-) ≈ 0 y asociación a través de un riesgo relativo (RR) >1 ; todos en un intervalo de confianza al 95%. Las concordancias se estimaron entre estadio correspondiente al valor de absorbancia de una muestra con el estadio de inspección visual que concuerda, al menos, en uno de los dos observadores. Entre el estadio 1 y el 2 se situó la diferencia clínicamente relevante ^{40,51,54}, por lo que el estadio 1 fue comprendido como “no hemolizado”, sin impacto clínico, y cada estadio fue comparado con el estadio 1, cuyos resultados hacen alusión a clínicamente relevantes. Se llevó a cabo el cálculo de la probabilidad de obtener resultados sanguíneos sin la alteración de parámetro en muestras no hemolizadas con relevancia clínica y muestras con magnitud de hemolisis con impacto clínico, a través del cálculo de riesgo relativo (RR). Además, se realizó un cálculo de RR ajustado a través de la fórmula de no (RR ajustada = total no expuestos/total expuestos) en el estadio 1 frente al 7, por obtener en este último una tasa de falsos negativos de 0. La validez de constructo se evalúa a través de las concordancias y el VPP obtenido globalmente y los valores comprendidos en sus IC95%; no es posible realizar una prueba de hipótesis por ser unimuestral.

5. RESULTADOS

5.1. PROTOCOLO DE ENSAYO CLÍNICO CON PRODUCTOS SANITARIOS

Dadas las características del estudio, se considera el protocolo construido un resultado en sí mismo, atendiendo a su complejidad, los pasos y evidencias considerados para su elaboración.

Este protocolo, denominado ECYPVEN-H/17, recibe el acrónimo del título de:

Ensayo clínico cruzado incompleto, de tres brazos controlado con práctica clínica habitual, unicéntrico y ciego a terceros para evaluar la efectividad del calor y/o presión en venopunción antebraquial y el impacto en la intensidad de hemólisis.

Y el número 17 por ser en 2017 cuando fue concedido el dictamen favorable por el CEIm.

Además, a lo largo del desarrollo del trabajo de campo de dos estudios experimentales integrados en el protocolo, se llevaron a cabo decisiones reflejadas en la *Notas de Archivo del trabajo de campo* en el apéndice A, como consecuencia de: actualización de la información disponible del ámbito a experimentar, logística de la Unidad de Ensayos Clínicos del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa, y la detección de factores potencialmente confudentes no previstos. (Figura 5).

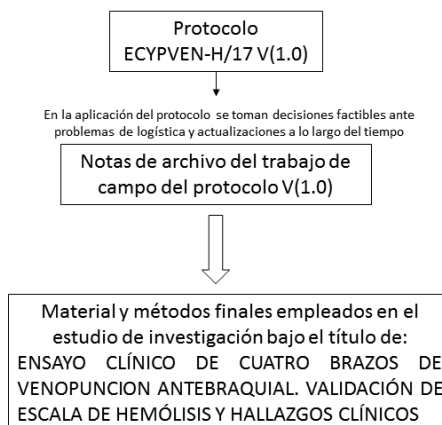


Figura 5. Diagrama de flujo de la elaboración definitiva de material y métodos.

5.2. RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DEL PROTOCOLO

5.2.1 RESULTADOS EN LA CANALIZACIÓN VENOSA ANTEBRAQUIAL

Características basales y demográficas.

La población del estudio que firmó el consentimiento informado fue de 63 participantes, de los cuales 62 cumplieron con todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión y, de éstos, 59 completaron el ensayo por cumplimiento de protocolo, después de ser incluidos y asignados al azar a uno de los tres grupos, de manera equitativa entre los grupos, tal y como se expone en la figura 6.

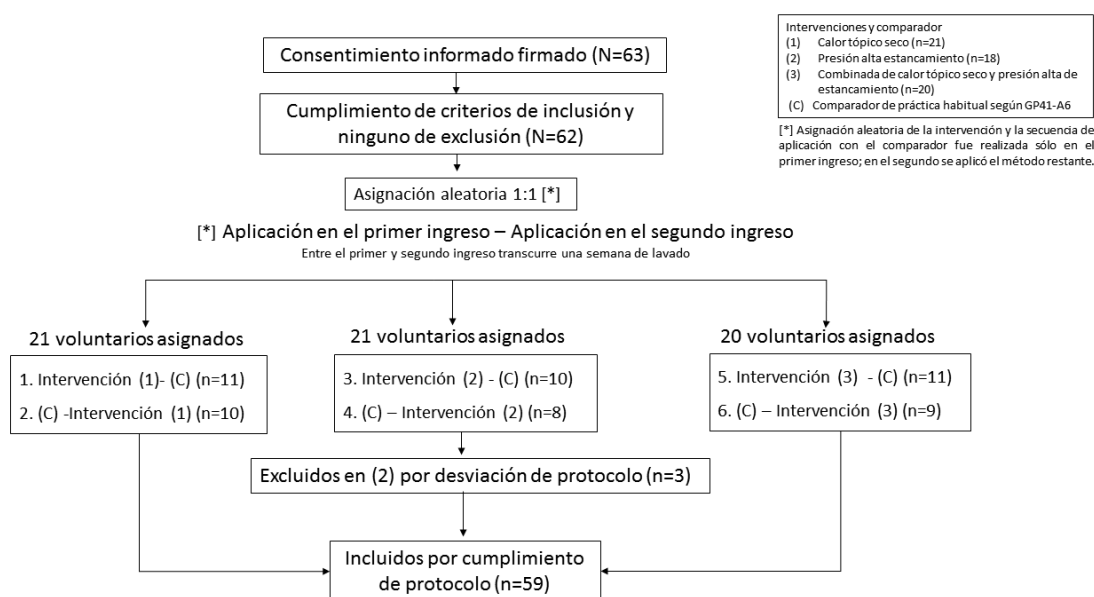


Figura 6. Diagrama de flujo de participantes incluidos y excluidos del ensayo clínico.

Ninguno de los participantes abandonó el estudio por iniciativa propia. La muestra total incluida, se encuentra representada a lo largo de la figura 7, la cual está constituida por 20 hombres y 39 mujeres. La media de edad en los hombres es de 26 ± 6 años y, en las mujeres de 27 ± 6 años, y la moda de 22 años, para ambos sexos. El 75% de la muestra tuvo 28 años y 31 años en hombres y mujeres, respectivamente.

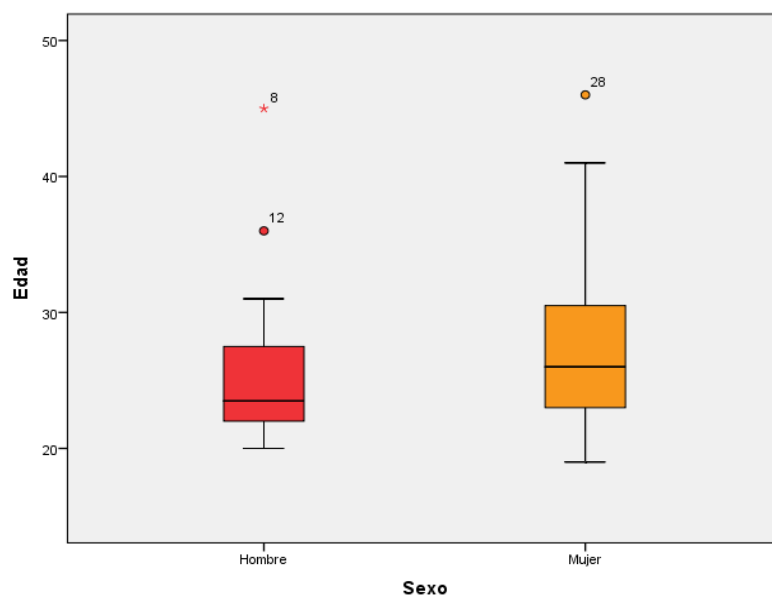


Figura 7. Diagrama de la distribución de la edad según el sexo.

Las características basales y la demografía de los participantes, según la intervención asignada, se muestran en la tabla 2. Tal y como se expone, los grupos fueron comparables en términos de sexo, edad, IMC, temperatura timpánica, pulso, presión arterial media, secuencia y fototipo de piel. Adicionalmente, la moda de edad entre hombres y mujeres, respectivamente, en el grupo de calor tónico fue de 21 y de 25 años, en el de presión alta de 28 y 22 años, y, en la combinada, de 23 y 21 años. La temperatura y la humedad de la sala de fase I, fue de $24,43^{\circ}\text{C} \pm 0,93$ y $33,25\% \pm 5,28$, respectivamente, por lo que se mantuvieron estables en los tres grupos de intervención. El grado de VIA ¹² y la zona antebraquial anatómica fueron diferentes entre los grupos, encontrando en el grupo 1 (calor tónico) la mayoría de los sujetos con percepción venosa complicada catalogada en el estadio IV, de la misma manera en la intervención 2, (presión alta de estancamiento) y, en la intervención 3 (combinada) la mayoría de los sujetos con percepción venosa comprometida fueron clasificados en estadio III de dificultad.

Tabla 2. Características basales y clínicas de los individuos distribuidos por grupo de intervención.

Variable	Calor tónico seco (n=21)	Presión de estancamiento alta (n=18)	Combinada (n=20)
Sexo. Femenino (%)	17(80,95)	11(61,11)	11(55,00)
Sexo. Masculino (%)	4 (19,04)	7 (38,88)	9 (45,00)
Secuencia IPI (%)	11 (52,40)	10 (55,60)	11 (55,00)
Edad (años)	26,19 ± 3,90	27,94 ± 6,57	26,05 ± 7,16
Caucásico (%)	12 (57,10)	12 (66,70)	13 (65,00)
Negro (%)	1 (4,80)	0 (0)	0 (0)
Latino (%)	8 (38,10)	6 (33,3)	7 (35,00)
Índice Masa Corporal (Kg/m ²)	23,13 ± 2,94	24,28 ± 2,72	22,75 ± 2,45
II grado VIA ¹ (%)	4 (19,00)	4 (22,20)	7 (35,00)
III grado VIA ¹ (%)	6 (28,60)	4 (22,20)	10 (50,00)
IV grado VIA ¹ (%)	10 (47,60)	10 (55,60)	3 (15,00)
V grado VIA ¹ (%)	1 (4,80)	0 (0)	0 (0)
Presión arterial media (mmHg)	77,21 ± 7,13	77,04 ± 6,99	79,48 ± 8,52
Frecuencia cardiaca (latidos/minuto)	63,62 ± 11,36	63,22 ± 12,68	65,20 ± 9,66
Temperatura timpánica (°C)	36,00 ± 0,34	35,78 ± 0,48	35,93 ± 0,45
Fitzpatrick fototipo I (%) ²	1 (4,80)	1 (5,60)	0 (0)
Fitzpatrick fototipo II (%) ³	2 (9,50)	2 (11,10)	1 (5,00)
Fitzpatrick fototipo III (%) ⁴	9 (42,90)	6 (33,30)	8 (40,00)
Fitzpatrick fototipo IV (%) ⁵	7 (33,30)	8 (44,40)	8 (40,00)
Fitzpatrick fototipo V (%) ⁶	1 (4,80)	1 (5,60)	3 (15,00)
Fitzpatrick fototipo VI (%) ⁷	1 (4,80)	0 (0)	0 (0)
Posterior a la aplicación de la intervención⁸			
Antebrazo distal (%)	14 (66,70)	10 (55,60)	14 (70,00)
Antebrazo medial (%)	3 (14,30)	5 (27,80)	5 (25,00)
Antebrazo proximal (%)	0 (0)	1 (5,60)	0 (0)
Flexura (%)	4 (19,00)	2 (11,10)	1 (5,00)
Cambios en VIA ⁹ en casos de éxito en el primer intento	21 (100)	17 (94,40)	19 (95,00)
Efectividad (primer intento)	21 (100)	18 (100)	19 (95,00)
Posterior a la aplicación del comparador⁸			
Antebrazo distal (%)	9 (42,90)	7 (38,90)	13 (65,00)
Antebrazo medial (%)	5 (23,80)	3 (16,70)	2 (10,00)
Antebrazo proximal (%)	0 (0)	2 (11,10)	3 (15,00)
Flexura (%)	7 (33,30)	6 (33,30)	2 (10,00)
Efectividad (primer intento)	11 (52,40)	7 (38,90)	10 (50,00)

Los datos se reflejan en: número de frecuencia (%) y, en su caso, media (desviación estándar). n: número de muestra incluida. ¹ VIA: Venous International Assessment pre-intervención, IPI: Intervención en el primer ingreso. Fitzpatrick fototipo: ² Blanco marfil, ³ Blanco propenso a quemadura solar, ⁴ Blanco sin propensión a quemadura solar, ⁵ Ligeramente tostado, ⁶ Moderadamente oscuro y ⁷ Negro. ⁸ El mismo antebrazo (derecho o izquierdo) fue utilizado en la intervención y en el comparador. ⁹ Al menos el cambio de un grado fue considerado clínicamente relevante.

Efectividad

Los resultados de la variable principal se muestran en la tabla 3. La efectividad en la canalización endovenosa fue significativamente mayor con la aplicación de cualquiera de las tres intervenciones que con la aplicación del comparador (OR = 2,07, IC95% [1,94 -2,19], p = 0,000). El uso de una de las tres intervenciones aumentó la probabilidad de éxito de la canalización venosa antebraquial en el primer intento más de 2 veces, en comparación con la práctica clínica. Así, la intervención significativamente más efectiva en la canalización fue la intervención 2

(presión alta) (OR = 2,57, IC95% [2,34-2,79], $p = 0,001$), seguida de las intervenciones 1 (calor tópico seco) (OR = 1,92, IC95% [1,70-2,13], $p = 0,002$) e intervención 3 (intervención combinada) (OR = 1,90, IC95% [1,87 -1,92], $p = 0,004$) respecto del comparador.

La incidencia acumulada de éxito en las tres intervenciones fue superior (IA=0,983, IC del 95% [0,949 -1,017]) que la del comparador (IA=0,475, IC del 95% [0,343- 0,606]). Para aquellos participantes que resultó fallido en el primer intento a través del comparador, la efectividad utilizando una de las tres intervenciones asignadas en el periodo restante fue del 96,8% (IA=0,968, 95% CI [0,902 -1,034]).

Solo hubo un sujeto en el cual no se logró una canalización al primer intento en la aplicación de la intervención 3 (combinada) y, en el periodo restante, también fue fallido al primer intento tras realizar la canalización con el comparador. En aquellos sujetos, en los que, en el primero intento fue fallido y, posteriormente, se logró la canalización en la mediana de los intentos sucesivos a través del uso del comparador, fueron todos al segundo intento (2.00 [2-2]).

Tal y como refleja la tabla 3, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en lo que refiere a la efectividad entre la intervención 1 (calor tópico seco) y 3 (combinada), o entre 2 (torniquete de alta presión) y 3 (combinada).

En lo que refiere a las zonas anatómicas de acceso venoso, cuando se llevó a cabo en la zona antebraquial distal, la efectividad fue significativamente mayor a través de alguna de las intervenciones frente al comparador (OR = 2,15, IC95% [2,08-2,21], $p = 0,000$). En particular, la intervención 3 (combinada) fue más efectiva para la canalización venosa en la zona antebraquial distal que el comparador (OR = 2,40, IC95% [2,12 -2,68], $p = 0,016$). Por el contrario, no hubo diferencias significativas en la efectividad al primer intento en las intervenciones 1 o 2, respecto al comparador en canalización exitosa al primer intento, en la zona antebraquial distal ($p = 0,125$). Además, no se encontraron diferencias significativas en el antebrazo proximal, medial, ni en la flexura en ninguna intervención respecto al comparador en la canalización (éxito o fallo) en el primer intento (tabla 3). Sin embargo, cuando no se consiguió una canalización al primer intento en el comparador y, en el periodo restante, se consiguió a través de: la intervención 1 en un 55% de los casos, la intervención 2 en un 62% de los casos y la intervención 3 en un 58%.

Tabla 3. Resultados de análisis univariante y multivariante. Exclusivamente, las variables estadísticamente significativas ($p < 0,05$) fueron incluidas en el análisis multivariante.

Análisis univariante			
Grupos	Éxito al primer intento en un grupo / Éxito al primer intento en otro grupo	OR ² [95% IC]	p valor ¹
Intervenciones (n=59) / Comparador (n=59)	58 (98,30) / 28 (47,45)	2,07 [1,94 - 2,19]	0,000
Presión estancamiento alta (n=18) / Comparador (n=18)	18 (100,00) / 7 (38,88)	2,57 [2,34-2,79]	0,001
Calor tópico seco (n=21) / Comparador (n=21)	21 (100,00)/11 (52,38)	1,92 [1,70-2,13]	0,002
Combinada (n=20) / Comparador (n=20)	19 (95,00)/ 10 (50,00)	1,90 [1,87-1,92]	0,004
Ajustado por zona anatómica antebraquial ^{3,4}			
³ Intervenciones (n=7) / Comparador (n=7)	6 (85,71) / 3 (42,85)	2,00 [0,88-4,45]	0,250
⁴ Intervenciones (n=29) / Comparador (n=29)	28 (96,55)/ 13 (44,82)	2,15 [2,08- 2,21]	0,000
Ajustado por zona antebraquial distal ⁴			
Combinada (n=12)/ Comparador (n=12)	12 (100,00)/5 (41,66)	2,40 [2,12-2,68]	0,016¹
Análisis multivariante			
Calor tópico seco (n=21) / Combinada (n=20)	21 (100,00) / 19 (95,00)	85,00 ⁵ [0,00-]	0,998 ⁶
Presión estancamiento alta (n=18) / Combinada (n=20)	18 (100,00)/ 19 (95,00)	85,00 ⁵ [0,00-]	0,998 ⁶

¹Prueba de Mc Nemar, a menos que otra prueba se reseñe. Los valores son expuestos en números (%).²OR: Odds ratio ajustada, a menos que se explicita otra fórmula. IC: Intervalo de confianza.³Flexura. ⁴Antebrazo distal. ⁵OR fórmula estándar. ⁶Regresión logística binaria con *dummies*. El resto de zonas anatómicas no se reflejan por insuficiencia de variabilidad de información. El límite superior del intervalo de confianza por insuficiencia de variabilidad de datos para su cálculo. La significación estadística fue establecida en $p < 0,05$. La distribución no paramétrica ha sido asumida a través de las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$).

Resultados clínicos secundarios

No se encontró una asociación entre las características basales de los individuos y la efectividad de las tres intervenciones o comparador ($p > 0,05$ mediante un modelo de regresión logística binaria). Se encontraron diferencias significativas en la escala VIA¹² entre cada uno de los tres grupos de intervención y el comparador, tal y como se refleja en la tabla 4. Sólo en un participante no se percibieron cambios del estado superficial venoso, según la escala VIA¹², al que se le asignó y se le aplicó, previamente, la intervención 2 (presión alta de estancamiento) ($p = 0,000$). Todos los cambios en percepción venosa antebraquial encontrados, según VIA¹², fueron positivos y ninguno negativo, es decir, en ninguno de los participantes se dificultó la percepción venosa. Las variables significativas en el análisis univariante ($p < 0,05$) se incluyeron en el análisis multivariante. Por lo tanto, los cambios adicionales de un grado en la escala VIA entre las intervenciones, cuando se logró la efectividad, se evaluaron mediante una regresión logística con *dummies* que resultó en un beneficio no significativo (calor tópico seco / combinada) ($p = 0,998$) y (presión alta de torniquete / combinada) ($p = 1,00$). Tal y como se refleja en la tabla 4, las tres intervenciones fueron atenuantes del dolor percibido frente al comparador, sin embargo, las intervenciones 2 y 3, fueron, clínicamente significativas, menos dolorosas que cuando se empleó el comparador.

5. RESULTADOS

Tabla 4. Hallazgos clínicos.

Variables	Análisis univariante					
	Calor tóxico seco (n=21)	p valor	Presión de estancamiento alta (n=18)	p valor	Combinada (n=20)	p valor
¹ VIA cambios positivos /negativos	21 (11) / 0 (0)	0,000 ²	17 (8,50) / 0 (0)	0,000 ²	20 (10,50) / (0)	0,000²
³ EVA cambios negativos /positivos	8 (7,88)/ 7 (8,14)	0,863 ^{2,4}	11 (7,45) / 3 (9,50)	0,205 ^{2,4}	11 (8,59)/ 6 (9,75)	0,391 ^{2,4}
³ Hemólisis en absorbancia (u.a.) cambios negativos /positivos	9 (9,67) /11 (11,18)	0,502 ²	7 (11,14)/ 11 (8,45)	0,744 ²	5 (10,90)/15 (10,37)	0,059 ²

¹ Comparador (pre intervención) menos post intervención. ² Prueba de Wilcoxon. Los datos son presentados en número de cambios (rango promedio), el resto de números no presentados son empates. ³ Post intervención menos comparador. Distribución no paramétrica fue comprobada a través de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$). La significación estadística fue establecida a $p < 0,05$ a menos que otro valor sea enunciado. ⁴ Cualquier cambio numérico en la evaluación del dolor fue considerado clínicamente significativo, por lo tanto no se estableció significación estadística en p-valor. EVA: Escala Visual Analógica. U.a.: Unidades adimensionales.

Adicionalmente, en las muestras sanguíneas obtenidas a través de las tres intervenciones no resultó en un aumento significativo de la hemólisis. De la misma manera, como se observa en la figura 8, tampoco se detectó una correlación significativa entre el dolor percibido y la hemólisis en las muestras en las tres intervenciones.

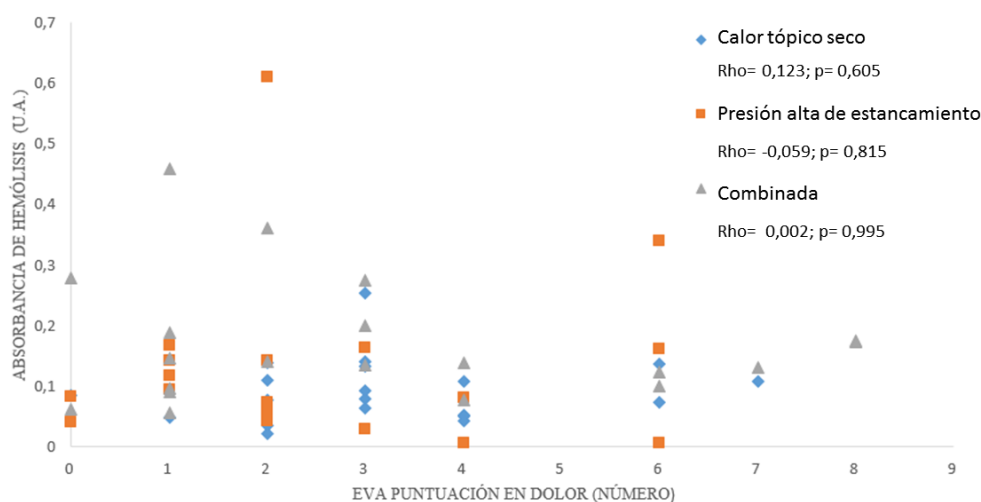


Figura 8. Correlación y asociación entre el dolor percibido y la hemólisis en las muestras extraídas a través de cada uno de los métodos aplicados. Nomenclatura de u.a.: Unidades adimensionales. p valor $< 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo; la correlación de Spearman (rho) fue empleada. La distribución no paramétrica fue asumida a través de la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$). Las unidades adimensionales de absorbancia fueron aplicados un factor de corrección basal y factor de corrección para la lipemia; cuyos puntos de corte en longitud de onda han sido a 385 nm, 414 nm y 750 nm. El factor de corrección de lipemia empleado fue la siguiente fórmula: $(A_{414}-A_{385}) + 0.16 \times A_{385}$ ⁵⁷.

Durante el estudio, no se registraron eventos adversos graves. En particular, solo 14 participantes (23,72%) sufrieron al menos un evento adverso. De ellos, el más frecuente fue el eritema local (92,85%) y, en un caso, se halló una parestesia transitoria (7,15%). La incidencia de aparición de eventos adversos correspondientes a cada intervención fue, de eritema local, idéntica en las intervenciones 1 y 3 (33,00%) y, superior, en la aparición de parestesia transitoria en la intervención 2 (5,55%) y en la intervención 3 (2,63%). Sin embargo, no se observaron eventos adversos cuando se utilizó el comparador. De tal manera que, el eritema local y la aparición de parestesia transitoria se asociaron significativamente con las intervenciones de calor y presión (OR = 13,00, IC95% [12,497-13,503], $p = 0,027$). No obstante, no se encontraron diferencias significativas en la aparición de eritema local entre las intervenciones 1 y 3 ($p = 0,819$).

El evento adverso de eritema local estuvo presente en los fototipos II, IV y V en una frecuencia de 0,33%, 0,42% y 0,00% respectivamente en la intervención 1 (calor tópico seco), y de 0,37%, 0,25% y 0,33% respectivamente en la intervención 3 (combinada). No se evidenciaron eventos adversos en el resto de fototipos en los voluntarios y no se encontró una asociación significativa entre la aparición de eritema local y los tipos de piel, según los fototipos de Fitzpatrick, entre las intervenciones empleadas con calor ($p = 0,063$).

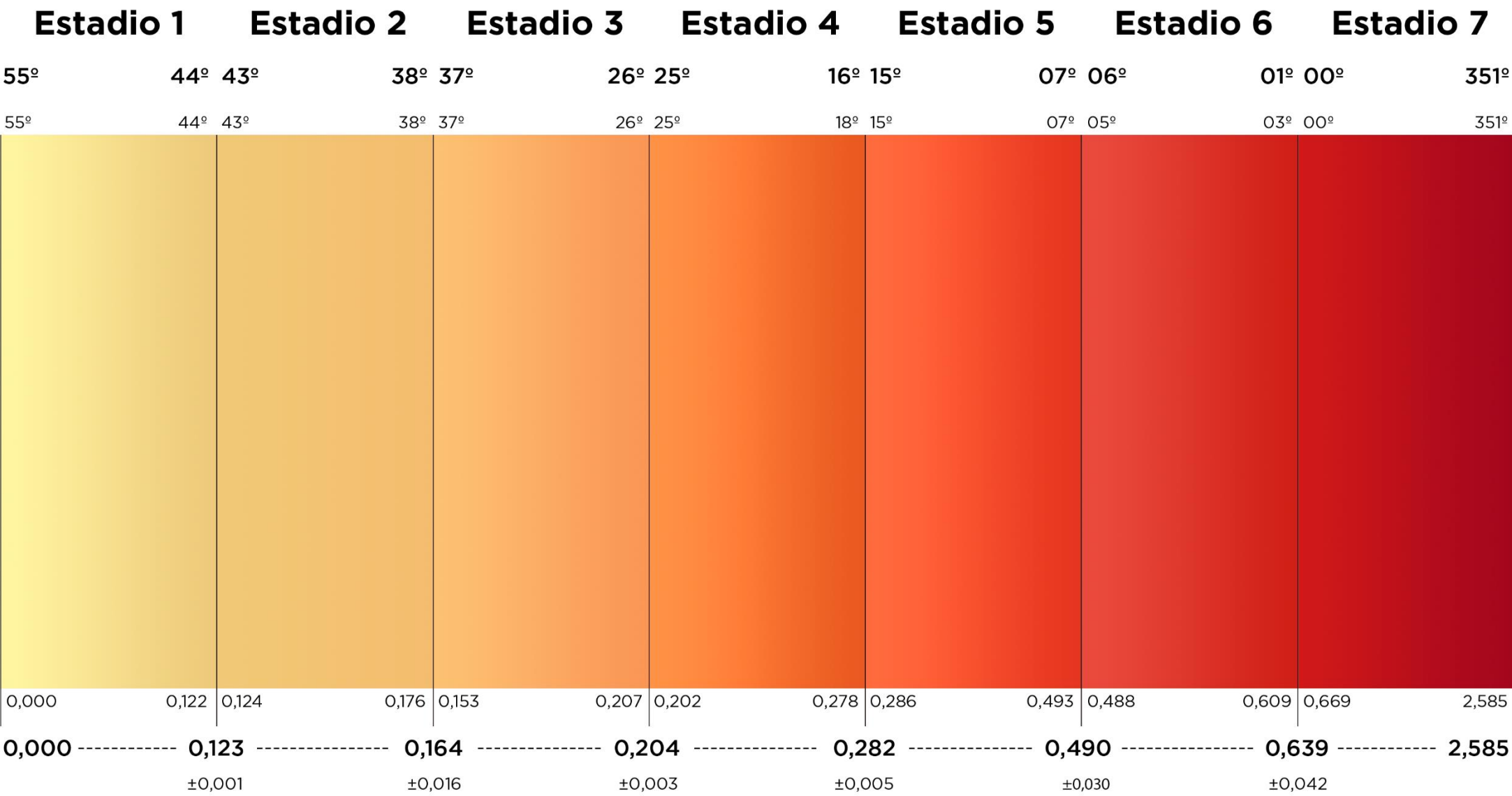
5.2.2. RESULTADOS EN LAS VERSIONES DE LAS ESCALAS

5.2.2.1. RESULTADOS EN EL DISEÑO DE LAS TRES VERSIONES

De un total de 62 sujetos adultos sanos, se obtienen 320 muestras de plasma, de las cuales 277 muestras se incluyen en la matriz de datos sin factores confundentes, dando lugar a las siguientes tres versiones de las escalas degradadas de intensidad de hemólisis, reflejadas en el siguiente orden:

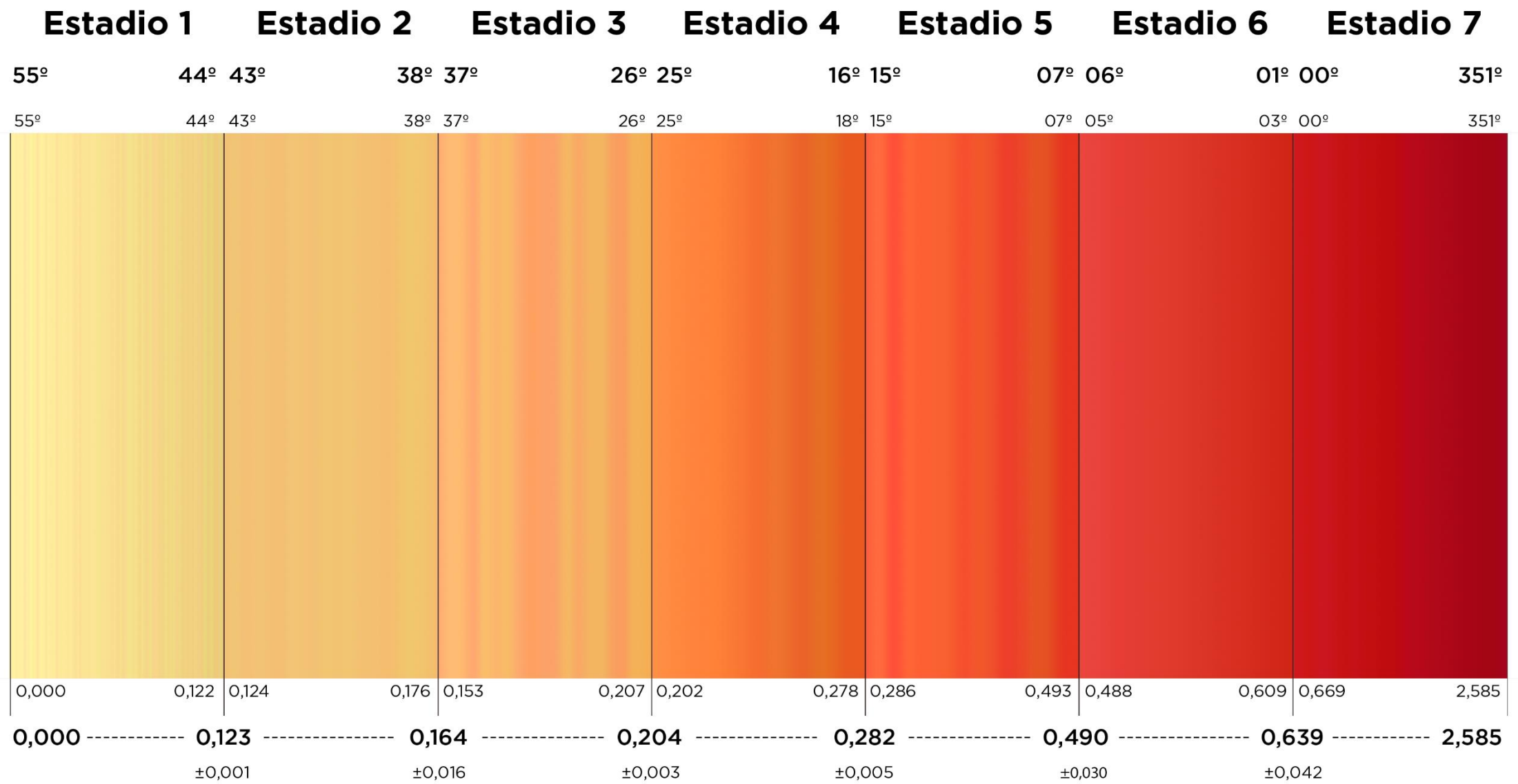
- Figura 9. Escala degradada de intensidad de hemólisis teórica.
- Figura 10. Escala degradada de intensidad de hemólisis real.
- Figura 11. Escala degradada de intensidad de hemólisis empírica.

ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS



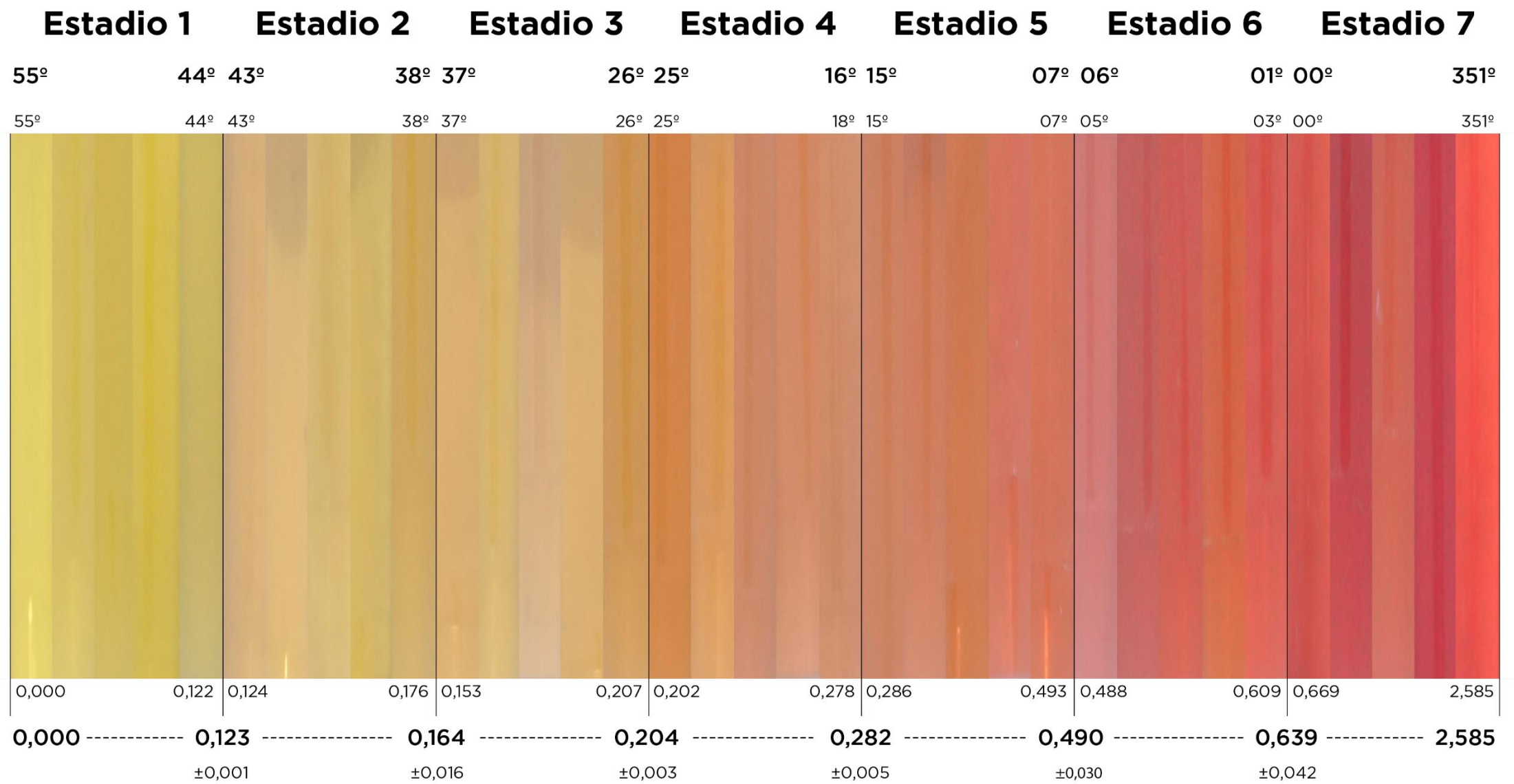
Parámetros de absorbancia de hemólisis independiente de lipemia con factor de corrección
ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS TEÓRICA
ECYPVEN-H/17 V (1.0)

ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS



Parámetros de absorbancia de hemólisis independiente de lipemia con factor de corrección
ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS REAL
ECYPVEN-H/17 V (1.0)

ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS



Parámetros de absorbancia de hemólisis independiente de lipemia con factor de corrección
ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS EMPÍRICA
ECYPVEN-H/17 V (1.0)

5.2.2.2. RESULTADOS EN LA PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LAS VERSIONES DE LAS ESCALAS

Datos descriptivos de las tres versiones de las escalas

Se recogieron muestras de plasma de una muestra total de 64 voluntarios sanos. De los cuales 52 de ellos, se han recopilado en tres momentos del día establecidos. En el resto no fueron necesarias en los tres momentos dada la magnitud visual de hemólisis de las muestras sanguíneas que proporcionaban algunos sujetos. De la misma manera, en 24 sujetos, se obtuvieron muestras de plasma adicionales por el interés discriminado de la magnitud visual de hemólisis y, en 40 sujetos fueron compartidas en la evaluación visual de dos versiones en sus correspondientes formatos por cuatro observadores, 2 de ellos diferentes entre versiones de escalas.

Tal y como se refleja en la tabla 5, el total entre escalas es común y, de manera similar, en los extremos se percibe un aumento de frecuencia de muestras obtenidas respecto a los estadios intermedios.

Tabla 5. Tamaño muestral de las versiones de escalas según los límites de los estadios.

RECuento	ESTADIOS							TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	
ESCALA TEÓRICA								
DT	15	19	07	10	08	09	12	80
MA	14	16	10	10	09	09	12	80
ESCALA REAL								
DT	17	15	06	09	10	07	16	80
MA	15	14	10	09	09	09	14	80
ESCALA EMPÍRICA								
DT	10	15	15	13	09	05	13	80
MA	17	09	09	09	09	09	18	80

DT: desviación típica. MA: Media aritmética

Como resultado, se evalúan, en primer lugar, las concordancias entre los estadios visuales (expresado por los observadores) y los estadios determinados por las medias aritméticas de los valores de absorbancia y, de manera descriptiva, las concordancias entre los estadios visuales y los estadios delimitados por la desviación típica.

Tabla 6. Concordancias según los límites de los estadios.

CONCORDANCIAS SEGÚN MEDIA ARITMÉTICA					CONCORDANCIAS SEGÚN DESVIACIÓN TÍPICA				
MOMENTO	SOPORTES				SOPORTES				
	Papel		Electrónico		Papel		Electrónico		
Escala degradada de intensidad de hemólisis teórica									
Test	50,0		42,5		48,8		46,3		
Re-test	71,3		41,3		63,7		43,8		
Escala degradada de intensidad de hemólisis real									
Test	56,1		48,8		51,2		46,3		
Re-test	60,0		43,8		51,2		45,0		
Escala degradada de intensidad de hemólisis empírica									
Test	56,3		67,5		47,5		63,7		
Re-test	48,8		52,5		42,5		46,3		

Los valores se expresan en porcentajes de concordancias.

Tal y como se refleja en la tabla 6, a excepción de la escala degradada de hemólisis teórica, que en formato papel, en el *re-test*, y a través de los estadios definidos por la media aritmética resultó en un porcentaje de concordancia satisfactorio ($\geq 70\%$), el resto de versiones de escalas, en ambos soportes, *test*, *re-test*, en los estadios formulados por la media aritmética o ajustado por las desviaciones típicas no alcanzaron un valor satisfactorio de concordancias, por lo que, no se considera que cumplan con la primera premisa para ser válidas y no se continua con el análisis del resto de parámetros de fiabilidad y validez.

5.2.2.2.1. RESULTADOS DE LA ESCALA DEFINITIVA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS

5.2.2.2.1.1. RESULTADOS EN EL DISEÑO

Descripción del diseño de la escala definitiva teórica

Como consecuencia de alcanzar un porcentaje de concordias del 71,3%, en los estadios delimitados por las medias aritméticas, se obtiene la escala final teórica en la que se reflejan los estadios definitivos visuales según el modelo HSL, en la siguiente tabla 7.

Tabla 7. Definición de los estadios de la escala degradada definitiva según el modelo HSL.

	Tono	Saturación	Brillo
Estadio 1	55°-44°	35%-44%	99%-89%
Estadio 2	43°-38°	47%-50%	90%-90%
Estadio 3	37°-26°	50%-60%	93%-89%
Estadio 4	25°-16°	68%-80%	95%-80%
Estadio 5	15°-07°	71%-81%	91%-78%
Estadio 6	06°-01°	68%-83%	80%-70%
Estadio 7	00°-351°	82%-88%	70%-55%

De la misma manera, se refleja en la siguiente tabla 8 los valores que se reseñan en la parte superior e inferior de la tira de colores en la escala degradada de intensidad de hemólisis teórica definitiva, cuyo resultado de concordancias global corresponde al valor enunciado anteriormente:

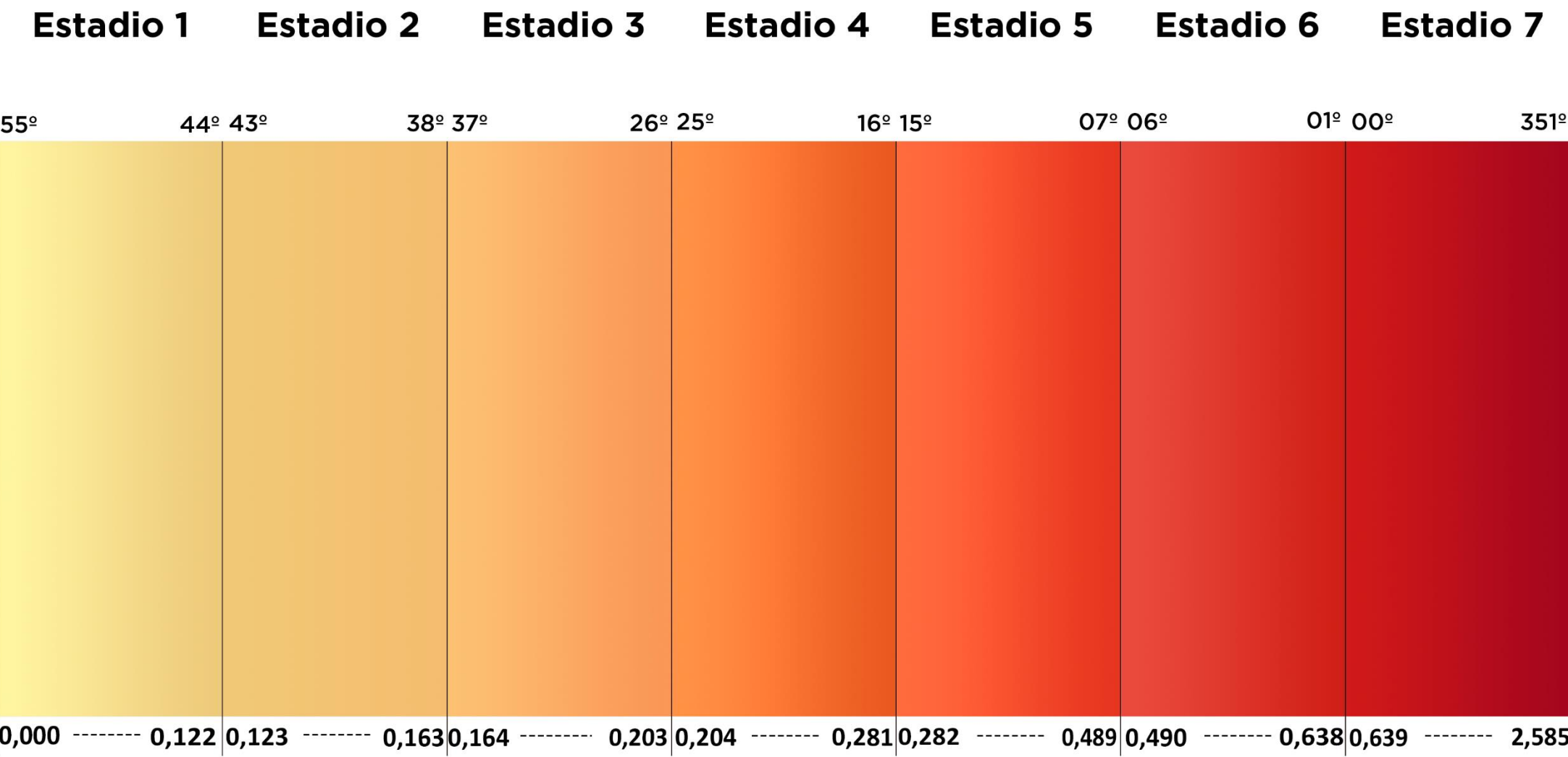
Tabla 8. Intervalos en grados de tono de color y en unidades adimensionales de absorbancia.

	Tono del color (grados)	Absorbancia (U.A.)
Estadio 1	55°-44°	0,000-0,122
Estadio 2	43°-38°	0,123-0,163
Estadio 3	37°-26°	0,164-0,203
Estadio 4	25°-16°	0,204-0,281
Estadio 5	15°-07°	0,282-0,489
Estadio 6	06°-01°	0,490-0,638
Estadio 7	00°-351°	0,639-2,585

U.A.: unidades adimensionales

En la siguiente figura 12, se ha plasmado la información incluida en las dos tablas anteriores, dando lugar a la imagen de “Escala degradada de intensidad de hemólisis definitiva (teórica)”:

ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS



Parámetros de absorbancia de hemólisis independiente de lipemia con factor de corrección
ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS DEFINITIVA (TEÓRICA)
ECYPVEN-H/17 V (1.0)

5.2.2.2.1.2. RESULTADOS EN LA PRUEBA DE VALIDACIÓN DE LA ESCALA DEFINITIVA

Fiabilidad y validez de la escala degradada de intensidad de hemólisis definitiva (teórica)

Parámetros de fiabilidad

Fiabilidad interobservador e intraobservador

A pesar de que las concordancias se obtuvieron de la inspección visual de uno de los dos observadores en la escala definitiva teórica, entre éstos dos se obtuvo un acuerdo moderado en el *re-test* ($k=0,270$). Adicionalmente, la fiabilidad intraobservador de ambos según los estadios de clasificación por inspección visual, *en el test y re-test*, fue, equivalentemente, moderada entre el primer observador ($k=0,474$), y el segundo ($k=0,489$). El acuerdo en cada observador, fue superior al acuerdo entre ellos en la evaluación visual de la escala de manera global.

Fiabilidad del instrumento

Se determinó una estabilidad alta tanto del contenido plasmático a medir como del instrumento medidor del espectrofotómetro a lo largo de las mediciones repetidas de absorbancia de cada muestra en el *re-test* ($CCI=0,995$, IC 95% [0,992 - 0,996]).

Fiabilidad de la consistencia interna

Se obtiene una heterocedasticidad significativa entre los estadios que elaboran la escala ($p=0,000$). Tal y como se observa en la figura 9, cada estadio contiene una varianza significativamente diferente entre los mismos, de manera que, los estadios más bajos están formados por varianzas menores y, a medida que aumenta la magnitud de hemólisis, aumenta la varianza de la absorbancia enmarcada en los estadios sucesivos, delimitados por la media aritmética de absorbancia. Por lo tanto, se obtiene una correlación significativa ascendente entre los valores de absorbancia de las muestras y los siete estadios de absorbancia formulados, de acuerdo con la magnitud ascendente de hemólisis a lo largo de la escala ($\rho=0,988$, $p=0,000$).

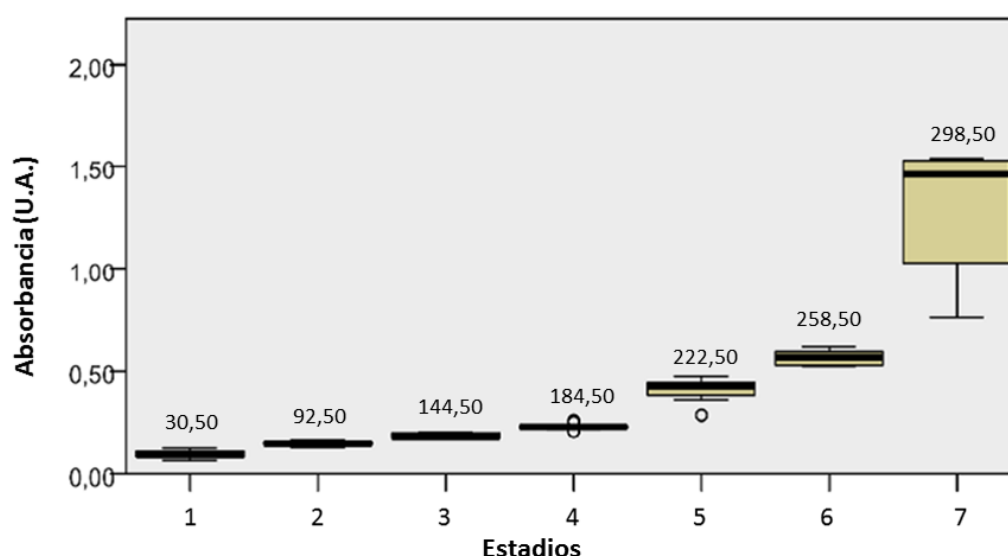


Figura 13. Heterocedasticidad entre los estadios de la escala degradada de hemólisis definitiva (teórica). U.A.: Unidades adimensionales. Los datos numéricos se expresan en rangos promedios de absorbanza, en unidades adimensionales. Prueba de Kruskal-Wallis para los siete estadios ($p=0,000$), se consideró una significación estadística en $p < 0,002$

Adicionalmente, en la figura 9, se observa una estrecha diferencia clínicamente relevante de la varianza entre el estadio 1 y 2, respecto a las diferencias aumentadas de las varianzas entre el resto de estadios. Las desviaciones típicas de las muestras de plasma incluidas en la validación de cada estadio, fueron, no linealmente, bajas en los estadios iniciales y altas, en los estadios superiores: Estadio 1: 0,018; estadio 2: 0,009; estadio 3: 0,013; estadio 4: 0,015; estadio 5: 0,055; estadio 6: 0,036; y estadio 7: 0,277.

Parámetros de validez

Validez de apariencia

La pertinencia de representar la magnitud de hemólisis limitada a siete estadios, fue respaldada por el panel de expertos ³⁹, adicionalmente, la relevancia clínica de hemólisis representada se respalda por teoría subyacente del panel de expertos y artículos que comparten el punto de corte ^{39,51,57}.

Validez de contenido

La absorbanza de las muestras de plasma incluidas en la validación, fueron suficientemente adecuadas para reflejar el espectro total de la magnitud de hemólisis enmarcada en la escala (Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) = 0,715). De manera similar, se obtuvo una asociación significativa entre la absorbanza de hemólisis y los tonos de color para representar la unidimensionalidad de la escala definitiva de la hemólisis (Prueba de esfericidad de Bartlett, p -valor = 0,000).

Validez de criterio. Validez concurrente y predictiva**Validez concurrente**

La validez concurrente hace alusión a la validez obtenida en el *re-test*. Por lo que, tal y como se ha reflejado anteriormente en la tabla 6, la validez concurrente global fue de 71,3%. Las concordancias absolutas en cada uno de los siete estadios en el *re-test* fueron suficientes, a excepción de los estadios 4, 5 y 6, cuyo tamaño muestral fue inferior respecto al resto de estadios: estadio 1 del 100%, estadio 2 del 100%, estadio 3 del 90%, estadio 4 del 60%, estadio 5 del 33,3%, estadio 6 del 11,1% y el estadio 7 de 63,6%. Además, en las discordancias se obtuvo una relación significativamente estrecha entre el estadio visual inspeccionado por los observadores y el clasificado por absorbancias ($\rho=90\%$, $p=0,000$).

Validez predictiva

Se observa en la tabla 6, que el *test* no alcanza un parámetro suficientemente satisfactorio, clasificando visualmente las muestras de plasma en las 48h antes a ser analizado por espectrofotometría. Sin embargo, el *re-test*, también es 4h predictivo a la medición de absorbancia. Por lo tanto, se exponen en la tabla 9, los valores correspondientes a la validez de criterio global de la escala, es decir, de los estadios 2 al 7 respecto al estadio 1, cuya cantidad de hemólisis no es clínicamente relevante. De tal manera que, los valores reflejados en la tabla 9, aluden a parámetros clínicamente relevantes.

Tal y como se observa en la tabla 9, las concordancias y especificidad globales obtienen una frecuencia de, al menos, el 70% en IC95%. La sensibilidad es inferior al valor suficiente de, al menos, el 70% en IC95%, ($S=0,646$ IC95% [0,524-0,751]), aunque dicho valor se encuentra en el límite superior del intervalo de confianza al 95%. La tasa de falsos negativos es baja, y la de falsos positivos es nula. La predicción de la existencia de hemólisis a través de la escala es alta ($VPP \geq 70\%$ en IC95%) y la predicción de la ausencia de hemólisis, de manera global, es baja ($VPN < 70\%$). La probabilidad de que una muestra hemolizada no se identifique con una magnitud de hemoglobina libre en plasma clínicamente relevante es baja ($LR-=0,354$ IC95% [0,255-0,491]). Asimismo, la probabilidad de identificación visual de una muestra de plasma sin exposición de hemólisis clínicamente relevante es del 65% superior, frente a una muestra expuesta a una magnitud de hemólisis con impacto clínico.

Como consecuencia de los datos enunciados, cada estadio de la escala se incorpora en un análisis específico, frente al estadio 1 no clínicamente hemolizado. Se observa en la tabla 9, de manera no lineal, las concordancias de todos los estadios alcanzaron un valor de al menos un

70% en IC95%, a excepción del estadio 4 ($C=0,600$ IC95% [0,438-0,762]), cuyo valor mínimo de 0,70 se encuentra entre los valores recogidos en el intervalo al 95% de confianza. Todos los estadios fueron superiores al 70% en IC95% para la detección de la ausencia de hemólisis sin impacto clínico ($E=1,000$ IC95% [0,757-1,000]), sin obtener ningún falso positivo ($TFP=0,000$ IC95% [0,000- 0,000]). El valor de sensibilidad, en todos, fue $\geq 70\%$ en IC95, a excepción de dos estadios, de los cuales fue mayor en el 4 ($S=0,300$ IC95% [0,145-0,522]) frente al 6 ($S=0,250$ IC95% [0,040-0,710]). Asimismo, la tasa de falsos negativos es inferior al 70% en IC95%, excepto en ambos estadios mencionados anteriormente, como consecuencia, el estadio 4 resultó en menos errores ($TFN=0,700$ IC95% [0,517-0,883]) que el estadio 6 ($TFN= 0,750$ IC95% [0,450-1,000]). Todos los estadios, resultaron en una predicción de la magnitud de hemólisis correspondiente (VPP), superior al 70% en IC95%, de acuerdo a las prevalencias menores en los estadios del 2 al 7. En lo que refiere a la probabilidad de identificación correcta de las muestras, la probabilidad que una muestra hemolizada no se identifique con la correspondiente magnitud de hemoglobina libre en plasma es bajo ($LR \approx 0$ en IC95%), a excepción de la probabilidad alta de obtener un error de identificación de ausencia de hemólisis en la identificación de una muestra correspondiente al estadio 4 ($LR=0,700$ IC95% [0,525-0,933]). Adicionalmente, la probabilidad de identificación visual de una muestra libre de hemólisis cuando se expone a una liberación de hemoglobina no relevante en plasma, es mayor, en todos los estadios, frente a la magnitud de liberación de hemoglobina clínicamente relevante. En particular, los estadio 3 y 5 fueron, igualmente, superiores en la identificación de ausencia, en relación a sus correspondientes magnitudes ($RR=16,000$ IC95% [3,479-73,583]), que en el resto de estadios.

Tabla 9. Mediciones de validez de criterio global y específico de los estadios de la escala definitiva (teórica).

Mediciones	GLOBAL	ESPECÍFICO					
	Estadio 1 ^A	Estadio 2 ^B	Estadio 3 ^B	Estadio 4 ^B	Estadio 5 ^B	Estadio 6 ^B	Estadio 7 ^B
Concordancias	0,713 [0,613-0,812]	0,886 [0,780-0,780]	0,960 [0,883-1,00]	0,600 [0,438-0,762]	0,947 [0,847-1,000]	0,842 [0,678-1,000]	1,000 [1,000-1,000]
Discordancias	0,288 [0,188-0,387]	0,114 [0,009-0,220]	0,040 [0,000-0,117]	0,400 [0,238-0,562]	0,053 [0,000-0,153]	0,158 [0,000-0,322]	0,000 [0,000-0,000]
Sensibilidad	0,646 [0,524-0,751]	0,80 [0,577-0,923]	0,90 [0,571-1,000]	0,300 [0,145-0,522]	0,750 [0,290-0,960]	0,250 [0,040-0,710]	1,000 [0,590-1,000]
Especificidad	1,000 [0,757-1,000]	1,000 [0,757-1,000]	1,000 [0,757-1,000]	1,000 [0,757-1,000]	1,000 [0,757-1,000]	1,000 [0,757-1,000]	1,000 [0,757-1,000]
TFP	0,000 [0,000- 0,000]	0,000 [0,000- 0,000]	0,000 [0,000- 0,000]	0,000 [0,000- 0,000]	0,000 [0,000- 0,000]	0,000 [0,000- 0,000]	0,000 [0,000- 0,000]
TFN	0,354 [0,241-0,467]	0,200 [0,040-0,360]	0,100 [0,000-0,257]	0,700 [0,517-0,883]	0,250 [0,000-0,550]	0,750 [0,450-1,000]	0,000 [0,000- 0,000]
Prevalencia	0,812 [0,727-0,898]	0,571 [0,407-0,735]	0,400 [0,208-0,592]	0,571 [0,407-0,735]	0,211 [0,027-0,394]	0,211 [0,027-0,394]	0,318 [0,124-0,513]
VPP	1,000 [1,000-1,000]	1,000 [1,000-1,000]	1,000 [1,000-1,000]	1,000 [1,000-1,000]	1,000 [1,000-1,000]	1,000 [1,000-1,000]	1,000 [1,000-1,000]
VPN	0,447 [0,292-0,601]	0,952 [0,857-1,00]	0,986 [0,928-1,00]	0,909 [0,804-1,00]	0,969 [0,884-1,000]	0,913 [0,782-1,000]	1,000 [1,000-1,000]
LR-	0,354 [0,255-0,491]	0,20 [0,083-0,481]	0,100 [0,016-0,642]	0,700 [0,525-0,933]	0,250 [0,046-1,365]	0,250 [0,046-1,365]	0,000 [0,000-0,000]
RR	1,652 [1,284-2,126]	4,750 [2,112-10,681]	16,000 [3,479-73,583]	2,071 [1,435-2,990]	16,000 [3,479-73,583]	6,000 [2,336-15,411]	2,140 [1,944-2,336] ^C

La prevalencia del estadio 1 obtenida fue de 0,188. TFP: tasa de falsos positivos. TFN: Tasa de falsos negativos. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: valor predictivo negativo. Lr-: razón de verosimilitud negativa. RR: riesgo relativo. ND: no hay datos. Los IC se reflejan al 95%. ^A: Se analiza el estadio 1 respecto del conjunto de los estadios 2, 3, 4, 5, 6 y 7. ^B: Se analiza cada estadio respecto del estadio 1. ^C: RR ajustado.

Validez de constructo

Tal y como se ha reflejado anteriormente, la concordancia global es superior a un parámetro suficientemente satisfactorio ($C=0,713$ IC95% [0,611-0,814]). De la misma manera, todos los VPP de los estadios de la escala son mayores del 85% en IC95%.

Factibilidad

Los observadores dedicaron un tiempo medio (variabilidad) de inspección visual en cada muestra de 0,200 ($\pm 0,003$) minutos, mínimo de 0,12 minutos y máximo 0,33 minutos en el *re-test*. Adicionalmente, los observadores requirieron una formación previa del uso de la escala de 10 minutos de duración. El coste del formato papel en dimensión DINA4 de 90 gramos, es inferior a cinco euros.

6. DISCUSIÓN

6.1. DISCUSIÓN DEL PROTOCOLO DE ENSAYO CLÍNICO CON PRODUCTOS SANITARIOS

6.1.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN

Se ha llevado a cabo la elaboración de un protocolo (*Documento donde se describen los objetivos, el diseño, la metodología, las consideraciones estadísticas y la organización de un ensayo clínico*, tal y como señala el capítulo I, artículo 2 de la regulación de ensayos clínicos vigente en España ⁶⁸) con productos sanitarios por considerar la necesidad de elaborar un documento, que sirva como guía, en el ámbito de investigación que nos ocupa.

Asimismo, se ha elaborado con objeto de estandarizar las intervenciones que se emplean con productos sanitarios, a pesar de que, en la misma regulación mencionada anteriormente, figure que *cualquier investigación que de forma prospectiva asigne a las personas participantes a una o más intervenciones relacionadas con la salud que no sean medicamentos para estudiar sus efectos en indicadores de salud* es considerada dicha investigación *otro tipo de estudio clínico* ⁶⁸. De manera similar, se refleja en el mismo BOE lo siguiente: *Investigación clínica con productos sanitarios: Cualquier investigación sistemática en uno o más sujetos humanos con objeto de evaluar la seguridad o las prestaciones de un producto* ⁶⁸. Sin embargo, a pesar de que cualquiera de las definiciones podrían representar al presente estudio de investigación, se ha considerado más afín a la definición de ensayo clínico, por adecuarse la definición de protocolo, mencionada anteriormente, y de ensayo clínico la siguiente: *Un estudio clínico que cumpla cualquiera de las siguientes condiciones: 1.º Se asigna de antemano al sujeto de ensayo a una estrategia terapéutica determinada, que no forma parte de la práctica clínica habitual [...]. 2.º La decisión de prescribir los medicamentos en investigación se toma junto con la de incluir al sujeto en el estudio clínico. 3.º Se aplican procedimientos de diagnóstico o seguimiento a los sujetos de ensayo que van más allá de la práctica clínica habitual* ⁶⁸, de las cuales el presente estudio cumple con las condiciones 1º y 3º.

El documento de protocolo, sirve para afianzar el cumplimiento previsto de los componentes éticos del estudio dirigidos hacia los sujetos participantes, y la transparencia de la actividad investigadora, a través de la evaluación del dictamen positivo de un comité ético.

En consonancia con la literatura, se elaboran protocolos para evaluar la efectividad de intervenciones sin adición de medicamentos o productos ^{78,79} y, de la misma manera, incluyendo dispositivos, como los teléfonos móviles ⁸⁰, los cuales pueden llegar a ser considerados productos sanitarios según la definición enmarcada en la regulación estatal de los productos sanitarios ⁶⁹, en función del contexto considerado. Adicionalmente, los protocolos enunciados

constan de un registro con acceso internacional *ClinicalTrials.gov* promovido por la Organización Mundial de la Salud, a diferencia de los protocolos con medicamentos que constan de un registro europeo, EudraCT, proporcionado por la AEMPS. En este sentido, el presente ensayo clínico no consta en un registro europeo, a pesar de la comunicación con la AEMPS a tal fin; y tampoco en un registro internacional. Por el contrario, se ha hecho constar en un registro interno del Hospital Universitario de La Princesa, en consonancia con un ensayo clínico que prueba resultados similares al presente estudio en el mismo ámbito de la canalización venosa³⁴. Todo lo anterior se argumenta para justificar la adherencia a la seguridad de los sujetos incluidos en el estudio, y que se ha cumplido con los estándares habituales en este sentido.

De acuerdo a lo mencionado, un estudio sistemático de los trabajos publicados, refleja que 311 ensayos clínicos constan en el registro internacional reflejado anteriormente, y 362 ensayos clínicos no, de los cuales, 245 ensayos clínicos no exponen ninguna identificación de registro oficial⁸¹. Además, otro estudio, afirma que los ensayos clínicos publicados en 10 de las revistas en *Journal Citations Reports*, de alto impacto, no explicitan el tipo de registro que solicitan, y obtienen que el 83% de los ensayos clínicos divulgados, son registrados en alguna base de datos, de los cuales, el 52,9% se registran de manera retrospectiva y, solo el 17,6% de manera prospectiva⁸². Por lo tanto, emerge la necesidad de reflejar el protocolo en el manuscrito de la tesis doctoral para aumentar el acceso del mismo, una vez permanezca depositada en el repositorio de tesis doctorales, con acceso nacional. Por consiguiente, el presente protocolo convendría ser actualizado con las modificaciones no relevantes o sustanciales que figuran en las notas de archivo y ser, tanto registrado internacionalmente en *ClinicalTrials.gov*, como publicado en una revista internacional que publique protocolos de ensayos clínicos, como por ejemplo: *Journal of Advanced Nursing*. Se considera pertinente ambos métodos, complementarios, de registro y publicación, pues para acceder al protocolo en la base de registro, es necesario un conocimiento previo de la existencia de ésta. Sin embargo, a través de la publicación en una revista, no es necesario un conocimiento previo de registro de protocolos y, en combinación, afloraría la lectura de dicho protocolo.

Como consecuencia de los argumentos enunciados, se ha considerado pertinente el empleo del término “ensayo clínico”, adherido a las definiciones de las regulaciones nacionales que competen a este tipo de investigación y, en consonancia, con otros estudios experimentales de asignación aleatoria que evalúan intervenciones en las que incluyen dispositivos, los cuales, elaboran un protocolo de ensayo clínico, constan de un registro y publicación del mismo para aumentar el acceso y la transparencia.

6.1.2. APLICABILIDAD

El presente protocolo puede ser utilizado como guía para la elaboración de otros estudios experimentales aleatorizados en humanos que requieran el desarrollo de una herramienta facilitadora de una programación y previsión de errores sistemáticos, garantizando la seguridad y ética de los sujetos en la investigación.

También, podría ser utilizado para la reproducibilidad de los resultados hallados. Además, el protocolo, en combinación con las notas de archivo y el informe final de resultados, surte una continuidad de la metodología utilizada y los resultados aquí expuestos para desarrollar una línea de investigación y, de la misma manera, evitar que otros investigadores empleen esfuerzos y presupuesto encaminados hacia objetivos que, en este trabajo, no se han traducido en resultados concluyentes y, puedan ser evaluados en consonancia a la metodología utilizada, pues otra metodología podría originar resultados diferentes.

6.1.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS

En relación a las limitaciones del protocolo, existen situaciones no previstas y, por lo tanto, no figuran en dicho documento como los siguientes casos: de la delimitación anatómica antebraquial en cuatro zonas, factores confundentes de lipemia en la inspección visual, factor de corrección de lipemia en espectrofotometría, cálculo del tamaño muestral en la prueba de validación, así como el desarrollo de las estrategias del proceso de validación. En relación a otra debilidad, sería conveniente aumentar el tamaño de sujetos en cada intervención con el comparador, pues así, al realizar estratificaciones entre intervenciones y de las zonas anatómicas antebraquial, se evita la ausencia de visibilidad de resultados estadísticos, potencialmente por un tamaño muestral limitado y, como consecuencia, una variabilidad de datos menor del 10%.

En relación a las fortalezas, a pesar de que sería conveniente un registro internacional y publicación del protocolo actualizado, se ha aumentado el acceso a la información proporcionada en este manuscrito, adjuntando las notas de archivo al protocolo para que figure en el repositorio de tesis doctorales, pues en combinación, forman un documento, económicamente factible, garantizando la ética en la investigación con humanos y la seguridad de los mismos a través de un seguimiento, además de una guía para el análisis estadístico de efectividad aplicable en otras instituciones.

6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DEL PROTOCOLO

6.2.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN CANALIZACIÓN VENOSA ANTEBRAQUIAL

6.2.1.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS

Visto que el dolor, ansiedad, molestia e insatisfacción han sido objetivos en la investigación en la canalización venosa periférica, siendo la canalización al primer intento la medida más efectiva y atenuante, se ha empleado el calor tópico seco y la aplicación a alta presión, por ser procedimientos no complejos, como recursos facilitadores para la canalización venosa, que podrían suponer una optimización de los recursos materiales. Los resultados presentados en este trabajo sobre la canalización endovenosa son comparables a los encontrados en la literatura ^{11,20,34,41,83}.

En el presente estudio, las intervenciones 1 (calor tópico seco), 2 (alta presión de estancamiento) y 3 (combinada) son más efectivas que el comparador de práctica clínica habitual. En particular, aplicando calor seco durante siete minutos, ha resultado en 1,92 veces más efectivo que el comparador. De manera similar, Fink et al. mostró que la aplicación de calor seco, durante los mismos minutos, seguida de presión de estancamiento, fue 2,7 veces más efectiva que el calor húmedo para la inserción exitosa del catéter venoso ¹¹. En otro estudio, la aplicación de calor, durante 15 minutos seguido de la aplicación de presión de estancamiento, resultó en un aumento significativo del diámetro trasversal, frente a la ausencia de calor pero con el mantenimiento de la presión convencional aislada, tanto en venas de bajo calibre (mm) (3,4[2,8–3,8] frente a 2,9[2,0–3,4], $p=0,03$) como en venas de mayor calibre (3,9[3,2–4,2] frente a (3,4[2,2–4], $p=0,03$), a través de una evaluación con ecógrafo ³⁴. Por lo tanto, el resultado de la intervención de calor tópico reflejado en este manuscrito, converge con los encontrados por Yamagami et al. y Fink et al., mencionados anteriormente, los cuales mostraron que la combinación de calor local, para el aumento del flujo sanguíneo, y la aplicación de presión no controlada, para aumentar el estancamiento local del contenido venoso, provoca un beneficio significativo evidenciado tanto en canalización, como en dilatación venosa, respectivamente ³⁴. Sin embargo, la presión alta, en el mencionado estudio, no se controló, ni se monitorizó, y no se llevó a cabo, inmediatamente posterior a su aplicación, la canalización venosa. Sin embargo, en el último estudio mencionado, no se midió la asociación de la venodilatación con la canalización venosa antebraquial en el primer intento ^{34,35}.

Singularmente, nuestros resultados muestran que la presión alta de estancamiento venoso es 2,57 veces más efectiva que el comparador para lograr la canalización. Por lo tanto, se evidencia que la presión controlada a 100 mmHg mediante un esfigmomanómetro mejora la canalización

al primer intento. Hasta la actualidad, no se ha encontrado otro estudio en la literatura que compare la presión alta controlada con la presión no controlada aplicada en la práctica clínica, según la guía para la venopunción CLSI GP41-A6, en la cual se establece el uso de un compresor elástico para el estancamiento y, por lo tanto, no es posible controlar la presión aplicada y, a través del compresor proveído por el hospital, en común a otros hospitales nacionales, tampoco es posible una monitorización de la misma. De tal manera que, cuando la presión aplicada se lleva a cabo a través de un compresor elástico, la presión ejercida fluctúa dependiendo de la fuerza de la enfermera y la elasticidad del compresor, en el que estriba la elasticidad en el tipo de material y el período de tiempo que haya sido utilizado. De acuerdo con los datos obtenidos, se sugiere que la vida media del compresor elástico, para la presión de estancamiento, se tenga en consideración previo a su uso.

Específicamente, la intervención combinada fue 1,90 veces más efectiva que el comparador. En consonancia con los resultados obtenidos en este ensayo clínico con productos sanitarios, en el estudio precedente a éste, que empleó la intervención equivalente a la combinada (3), se obtuvo un aumento de 2,1 veces más, clínicamente y estadísticamente significativo de percepción venosa antebraquial, según VIA¹², tras la aplicación de calor y presión controlada a través de un esfigmomanómetro³⁵. Sin embargo, de manera similar al estudio de Yamagami et al., no se llevó a cabo una canalización venosa periférica, por lo que, no es posible la comparación del resultado de efectividad de la intervención combinada del presente ensayo clínico con los resultados hallados en ambos estudios reflejados^{34,35}.

Las tres intervenciones proporcionaron beneficios en la canalización antebraquial, e incluso beneficios adicionales cuando se aplicaron en el antebrazo distal. En concreto, la intervención combinada en el antebrazo distal es más efectiva para canalización que la aplicación del comparador. Sin embargo, cuando la canalización se realizó en flexura, no se encontraron beneficios notables en la canalización a través de las intervenciones frente al comparador. En relación con otros estudios según las áreas anatómicas, los resultados hallados del efecto de la intervención combinada, concuerda con el aumento del diámetro venoso superficial según varias zonas anatómicas del antebrazo cuando se aplicó calor y presión no controlada³⁴. Además, la pertinencia de la división antebraquial en varias zonas anatómicas se encuentra en consonancia con la división que realizan al validar la escala VIA¹², justificado por la diferencia del diámetro venoso en un estado fisiológico basal¹².

Dado que la canalización venosa tiene un componente subjetivo, visual y de palpación, se ha considerado que no debería abordarse la percepción venosa únicamente según el diámetro venoso en la venodilatación a través de un ecógrafo ³⁴. Por ese motivo, en el presente ensayo clínico, enfermeras con tiempo trabajado variado, y un recorrido del desempeño profesional dispar, fueron incluidas en los tres grupos de intervención. En contraste con otros estudios, en los cuales, solo participaron enfermeras con experiencia en oncología o anestesiistas ^{11,83}. Igualmente, el procedimiento de canalización se abordó teniendo en cuenta la experiencia de las enfermeras. Los resultados muestran que, en casi la totalidad de sujetos, excepto en uno, cualquiera que fuese la intervención expuesta, se obtuvo una mejoría significativa de la percepción venosa, respecto del comparador de, al menos, un estadio según la escala VIA¹². Así, en todos los individuos que se logró la canalización al primer intento, cursaron con un aumento de, al menos, un estadio según la escala VIA¹², a excepción del 1,7% de la muestra, un individuo en la intervención 2 (alta presión de estancamiento) que se logró la canalización en el primer intento sin percibir ningún cambio venoso según la escala VIA. Así mismo, las intervenciones que emplearon el efecto del calor, todos aumentaron, entre uno y dos estadios de mejoría de percepción. Sin embargo, en la intervención de presión, la mayoría mejoraron dos estadios, a pesar de que en un individuo no mejoró. En consonancia con los datos presentados, en un estudio precedente, en la intervención con calor y presión controlada, uniforme a la intervención 3 (combinada) obtuvo un aumento de, al menos, un estadio en el 96,5% de los sujetos ³⁵. De la misma manera, en común en este estudio con el previo, ningún sujeto empeoró la percepción venosa tras la aplicación de cada una de las tres intervenciones, así como cuando se aplicó calor y presión alta, equivalente a la intervención 3 ³⁵, cuyos datos se respaldan en la inspección del diámetro venoso en ecografía al aplicar calor y presión ³⁴.

Por los argumentos mencionados, las intervenciones analizadas en este estudio podrían ser utilizadas por toda las enfermeras, independientemente de las habilidades desarrolladas basadas en la experiencia. Es más, podrían ser útiles para enfermeras con poca destreza en canalización endovenosa.

En relación a la hipótesis formulada de efectividad, el éxito de canalización en el primer intento en el presente estudio superó los valores registrados en la práctica clínica habitual del 74% ¹⁷ y, de la misma manera, los valores registrados en canalización ecoguiada del 73% ²⁰. En concreto, el resultado obtenido fue superior al éxito en los segundos intentos obtenidos con estas técnicas, 92% y 91%, respectivamente ^{17,20}. Por lo que, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa. De forma similar a los resultados obtenidos, los resultados en

canalización ecoguiada y a través de un torniquete singular, con la magnitud de presión señalada en la superficie externa del torniquete, pero sin ser controlada, fueron efectivos en venopunción y dilatación venosa, respectivamente ^{20,34}. Sin embargo, la técnica ecoguiada requiere un entrenamiento adicional y un dispositivo complementario, como el ecógrafo, que no es necesario en las intervenciones de calor y/o presión. En relación al torniquete con la magnitud de presión señalada en el exterior del mismo, no se encuentra accesible en nuestro entorno, además de estar expuesto a la fuerza del enfermero que lo maneja y el periodo de tiempo de uso. En relación a las limitaciones del material en las intervenciones, a pesar de la incierta accesibilidad de las bolsas de semillas involucradas en este estudio, no están expuestas a variabilidad del efecto según la firmeza con la que se ha aplicado por el profesional, como en el caso del compresor, y en lo que refiere al esfigmomanómetro anerode, no sólo el equipo enfermero se encuentra habituado, lo que garantiza el correcto uso del recuso, si no que se encuentran disponibles en hospitales, centros de salud e incluso en ambulancias.

Respecto a la evaluación del dolor, se evidenció que la intervención 2 (presión alta de estancamiento) fue más efectiva para aliviar el dolor que la intervención 3 (combinada), y ambas fueron clínicamente significativas frente al dolor percibido con el comparador. A pesar de que la intervención 1 (calor tópico seco) no fue clínicamente significativa, igualmente con el resto de intervenciones, fue menos dolorosa que el comparador. Un estudio mostró diferencias en el dolor entre calor tópico seco de 94,2, y húmedo de 89 en la escala EVA. Sin embargo, el mismo estudio mostró que el calor seco fue significativamente asociado con una menor molestia informada por los participantes, que el húmedo, y sin diferencias significativas en la ansiedad entre los tipos de calor ¹¹. No se han encontrado estudios que comparasen el efecto del dolor en la aplicación de presión respecto de la técnica habitual.

En relación con resultados clínicos tras aplicar calor en el antebrazo para reducir el dolor, un estudio encontró que el tiempo de inserción se redujo en 20 segundos (8 a 32, $p = 0,013$) en pacientes que usaban calor tópico ⁸³. Se han registrado varios métodos efectivos para aliviar el dolor, en el adulto, los cuales evalúan el tiempo requerido para realizar la venopunción. Uno de estos métodos es el uso de crema anestésica local (EMLA®), el cual implica una hora de espera o, al menos, 20 minutos para lograr un efecto moderado antes de proceder a la canalización venosa, y, se ha evidenciado que el tamaño medio de la vena disminuye después de la aplicación de anestesia local, aunque este resultado no ha sido estadísticamente significativo y se explicita que depende del paciente y de la enfermera en el tiempo de aplicación ^{22,24}. De manera similar, cremas no farmacológicas que inducen frío y después calor, en la concentración mínima de 5%

alcanza la sensación de calor a los $12,6 \pm 2,3$ minutos²⁸, por lo que no es posible extrapolar su uso en situaciones de urgencia o que no es abordable asumir ese periodo de tiempo adicional a la canalización, y en pacientes con problemas dérmicos. La inyección de lidocaína²⁷, además de ser un recurso cruento, ha mostrado una eficacia equivalente a la pulverización de frío en términos atenuantes del dolor e, incluso, se ha relacionado un aumento significativo de canalizaciones fallidas (12,7%) frente a pulverizaciones frías (4,7%, $p=0,0066$) y, menores fallos, significativamente, en venopunción cuando se utilizó desinfectante como comparador (4,0%, $p=0,0014$). Además, se hallan controversias no explícitas del tiempo que se debe esperar tras la pulverización de frío, entre más de dos segundos²⁷ y entre cuatro y diez segundos^{29,84}, durando el efecto un minuto⁸⁴. Otro método es la maniobra de Valsalva, la cual, no sólo se ve afectada por las diferencias de comunicación verbal, como en niños o personas mayores, si no que requiere un entrenamiento y el tiempo requerido es difícil de estimar, pues puede variar entre personas. Además, es ampliamente reconocida una relación de la técnica con un posible síncope vasovagal, a pesar de que en el estudio mencionado no se registrara ningún evento adverso de dicha índole ni encontraran una asociación de variación hemodinámica clínicamente relevante³³. Otro método que ha sido objeto de investigación para aliviar el dolor, ha sido la musicoterapia, la cual no sólo requiere una escucha durante, al menos, cuatro minutos, sino que es necesaria una visita previa para personalizar la música y volumen al perfil del sujeto, lo que se traduce en tiempo adicional para la enfermera y un gasto de oportunidad para el beneficiario, por lo que el cómputo total del tiempo necesario es superior a cuatro minutos³⁰. De la misma manera, en otro estudio en el que el sujeto lleva música a su elección en un dispositivo personal, con auriculares, el tiempo mínimo de espera para poder iniciar el proceso de canalización es de seis minutos³², el cual podría ser abordable pero no en todos los entornos, como en situaciones de urgencia, y no toda la población maneja un dispositivo de música. También, requeriría un periodo de tiempo adicional para informar sobre lo que pueden portar, en una visita previa.

En el presente ensayo clínico, no se monitorizó el tiempo en cada una de las intervenciones, por lo que no es posible realizar una comparación respecto de los estudios mencionados anteriormente. Sin embargo, sí es posible realizar una estimación del tiempo en las tres intervenciones, a través de la evidencia existente sobre el efecto del calor tópico seco en los siete minutos de espera¹¹. Por lo tanto, se podría afirmar que la intervención que requiere un periodo de tiempo más prolongado es la 1 (calor seco) y la 3 (combinada) debido a siete minutos de espera, y, potencialmente, el recurso que conlleva menos tiempo, pudiendo establecerse como la estrategia más rápida la intervención 2 (alta presión de estancamiento).

Una reducción moderada del tiempo empleado en la preparación para iniciar la canalización, es tan importante como la efectividad de la canalización en sí misma, porque cuando el resultado es exitoso al primer intento, se omite el tiempo necesario de recuperación entre intentos fallidos de canalización, tanto en el paciente como en la enfermera y, por lo tanto, el cómputo total del proceso completo de canalización endovenosa no se dilata.

Aunque no se ha encontrado ninguna asociación en el estudio entre el sexo, raza, edad, IMC, tensión arterial media (TAM), pulso, temperatura, tipos de piel, percepción del estado venoso y la canalización al primer intento, los datos de las variables mencionadas se encuentran en los rangos de normalidad. Por lo que, podría sugerir que en la población adulta sana no influyen en la canalización. Sin embargo, no se aconseja extrapolar estos datos a otra población de la mencionada, pues podrían ser factores influyentes de otros resultados en canalización.

La edad de la población de estudio (adultos sanos) en cada intervención fue similar a la edad de la población en el estudio de Yamagami et al ³⁴. Por el contrario, fue diferente a la edad y la característica de enfermedad diagnosticada en el estudio realizado con pacientes¹¹. Por lo tanto, no es posible extrapolar a toda la población los resultados obtenidos. No obstante, se pueden emplear, tanto en personas adultas sanas, como en personas con enfermedad diagnosticada que mantengan una percepción venosa superficial no perjudicada por tratamientos intravenosos irritantes o vesicantes, como pacientes oncológicos. De otra manera, en personas, con enfermedad diagnosticada, que tengan contraindicado la aplicación del calor sobre la piel, y personas de avanzada edad, en los cuales podría no ser adecuado la aplicación de las intervenciones 1 y 3, por el efecto del calor sobre la piel sujeto a cambios fisiológicos del envejecimiento.

En relación a la población pediátrica, no se han hallado estudios con calor o presión como elementos facilitadores para la venopunción ni canalización. Se han encontrado estudios de canalización endovenosa en pediatría enfocados a paliar el dolor, ansiedad y molestia con el de técnicas no cruentas como: el uso de crema anestésica local ²⁴, sacarosa al 24% oral ²³, técnicas de distracción y dispositivos de vibración y frío ²⁶. A diferencia de algunos estudios mencionados, el calor o presión no conlleva aspectos farmacológicos ni preparados orales con principios activos y, en consonancia con las técnicas, no farmacológicas, de distracción dirigida ^{21,25} y distracción a través del dispositivo de frío y calor ²⁶, son efectivas y no conllevan largos periodos de tiempo en pediatría. De manera similar al dispositivo de vibración y frío, fue una medida no farmacológica efectiva tanto en población adulta como en población pediátrica ^{26,37}, por lo que

de las estrategias de calor y/o presión, se podrían beneficiar los niños. Sin embargo, se considera que no es adecuada una extrapolación de los resultados obtenidos pues los recursos utilizados en este estudio son de dimensiones adultas, tanto los sacos de semillas, como el esfigmomanómetro. Así, la presión arterial sistólica, la circunferencia del brazo y la piel, sobretodo en la temprana edad, son fisiológica y anatómicamente diferentes en la población pediátrica. Por lo tanto, sería necesario un estudio adicional, con los recursos materiales mencionados aptos a las características de la población pediátrica para poder beneficiarse de las estrategias.

Visto que no solo los pacientes están expuestos a la canalización venosa sino también personas sanas que pueden tener afecciones alérgicas, se ha considerado relevante evaluar qué intervención, no farmacológica, es menos dolorosa. Así, en todas las circunstancias que se precise una canalización, curse con la mayor efectividad y el mínimo dolor posible, la intervención más efectiva y menos dolorosa en adultos sanos es la intervención 2 (alta presión), seguida de 3 (combinada) y 1 (calor tópico seco).

De modo que, presumiblemente, la presión alta de estancamiento se aprecia como el efecto facilitador principal y, el calor, como efecto adyuvante, siempre y cuando se garantice un estado de salud libre de enfermedad, como son los sujetos sanos de este estudio. De otra manera, debería evaluarse, en primera instancia, la volemia y aspectos hemodinámicos del sujeto, pues en circunstancias de la mencionada índole, es esperable que el efecto principal y el efecto adyuvante sean inversos a los resultados de este estudio.

Adicionalmente, el fin de la canalización endovenosa, no sólo es la administración de un tratamiento intravenoso, si no que suele acompañarse de extracción de muestras sanguíneas. Sin embargo, el fin de la canalización se prolonga hasta conseguir muestras sanguíneas de calidad, cuyos resultados reflejen el estado fidedigno del usuario. Así, la obtención de las muestras sanguíneas, a través de las intervenciones, no se vieron afectadas, en un aumento de hemólisis, entre los grupos de intervención. Dichos resultados son relevantes porque muestran que las intervenciones permiten una recolección adecuada de muestras de sangre, que se adhieren a la calidad de las muestras y la seguridad del paciente para un análisis de sangre posterior. Adicionalmente, no se encontró ninguna relación entre el dolor percibido y la hemólisis en las muestras obtenidas a través de alguna de las tres intervenciones. No se han encontrado estudios que enfoquen sus líneas de investigación hacia la hemólisis de las muestras en intervenciones con calor o presión, por lo que no es posible realizar una comparación. De la

misma manera, tampoco se han encontrado estudios que midan el impacto del dolor en la hemólisis, sólo un estudio sobre la asociación de la satisfacción en la canalización y la concentración de hemólisis ⁴². Por lo tanto, aunque no es posible comparar, pues el dolor y la satisfacción son conceptos diferentes, sí se considera que debe realizarse una mención, pues se encuentran íntimamente relacionados. Por lo que, la satisfacción, cursó con un aumento no significativo de hemólisis de 1,2%, medidos en índices de hemólisis, sin denotar hemoglobina libre en plasma según inspección visual, aunque fue cuando se utilizó frío y vibración inmediatamente anterior a la venopunción para aumentar la satisfacción ⁴². En consonancia con el estudio, las medidas atenuantes del dolor (calor, presión y combinada) y el comparador no modificaron significativamente la cantidad de hemólisis, medida en absorbancia y, se mantuvo una calidad conveniente para no desencadenar sesgos.

Por lo tanto, las intervenciones, no sólo se adhieren a la seguridad del paciente en el perfil de laboratorio clínico, si no, también en la mínima aparición de eventos adversos, los cuales no fueron graves. En particular, fueron dos: eritema local y parestesia transitoria. En lo que refiere al eritema local, según el algoritmo de evaluación de la OMS ⁷³, fue considerada de gravedad incidental, causalidad probable e inspección de seguimiento como método de resolución, pues aparece después de siete minutos y, por lo tanto, la retirada de la fuente de calor ya ha sido realizada, no corresponde como resolución en este estudio. En relación a la parestesia transitoria, se clasificó, según la OMS ⁷³, como leve, causalidad definida y el método de resolución fue la eliminación inmediata de la presión del esfigmomanómetro, pues la sensación de parestesia expresada por el individuo fue inminente y, de la misma manera, la retirada de la presión aplicada. Además, no se produjo ninguna lesión en alguna arteria o nervio antebraquial con ninguna de las tres intervenciones (calor, presión o combinada) ni con el comparador, a diferencia de haberse descrito tales complicaciones previamente cuando la canalización se lleva a cabo a través de ultrasonidos ⁵⁰.

Las investigaciones halladas enfocadas en venopunción hasta la actualidad, tal y como se ha comentado, no se han encontrado trabajos que hayan controlado la presión ejercida y, por ende, tampoco que hayan declarado eventos adversos relacionados con la presión. Como consecuencia, no es posible realizar comparaciones del resultado obtenido de parestesia transitoria como evento adverso. Sin embargo, los eventos adversos de eritema local, sí es posible cotejar los resultados obtenidos con los de otros estudios, pues algunos proyectos han declarado la aparición de eritema cuando se aplicó calor húmedo durante siete minutos y ninguno cuando se aplicó calor seco durante el mismo tiempo, aunque, igualmente, expresaron

la estimación de aparición en este último grupo ¹¹. En otros estudios, con calor seco durante 15 minutos no se encontraron eventos adversos, pero, en convergencia con el estudio anteriormente mencionado, se consideró esperable, por lo que se midieron la temperatura de la piel, aumentando en 5,2 ° C, frente a la ausencia en la fuente de calor ³⁴. Como resultado, se consideran las intervenciones de este estudio seguras tanto para el equipo enfermero, como para los beneficiarios, en convergencia con los dos estudios mencionados ^{11,34}.

Asimismo, si bien es conocida la probabilidad de eritema, e incluso de quemadura con un uso inapropiado del calor ¹¹, la escala de Fitzpatrick afirma la esperable aparición de eritema según los tipos de piel. En discordancia, en el presente ensayo clínico, en el que se incluyó a voluntarios de distintas razas (caucásica, afro-europea y latina), no se encontró asociación entre la raza y el eritema local. Asimismo, tampoco se encontró una asociación significativa entre la aparición de eritema y los tipos de piel según Fitzpatrick, en discrepancia con la afirmación enunciada de Fitzpatrick, pues a medida que los tipos de piel son más oscuros la estimación de aparición decrece ⁶⁴. Por lo tanto, los resultados muestran una garantía de seguridad sea cual sea la raza y el tipo de piel en el empleo de las intervenciones con calor.

6.2.1.2. APLICABILIDAD

Visto que no ha habido diferencias significativas entre las tres intervenciones en los aspectos de: efectividad, hemólisis, eventos adversos, mejoría de la percepción venosa y alivio del dolor, se realizan las siguientes sugerencias del uso de cada una de las siguientes intervenciones, en relación a las circunstancias: la intervención 2 (presión alta) se considera conveniente en situaciones de emergencia, en circunstancias en las que los recursos, como en las ambulancias, sean limitados o, incluso, en casos de ansiedad, en los cuales un tiempo mínimamente prolongado de preparación, previo a la canalización, desencadena un incremento de dicha ansia en el sujeto, y sea necesario proveer agilidad al procedimiento. En relación a la intervención 1 (calor tópico seco), se enfoca hacia situaciones en las cuales una enfermera considera que es necesaria un agente facilitador no farmacológico, una limitada experiencia en canalización venosa periférica, una disponibilidad de un microondas y un empleo de tiempo, asumible, de siete minutos según las circunstancias del sujeto y una ausencia de ansiedad. Por último, la intervención 3 (combinada), se aboga por su uso cuando haya disponibilidad de tiempo y de un microondas, para la percepción venosa comprometida, como en los estadios V o IV de la escala VIA, y, especialmente, en los casos en los que sea preferible realizar una canalización en la zona anatómica antebraquial distal.

Se sugiere el uso de un esfigmomanómetro como una alternativa para el estancamiento venoso, ya que es superior en efectividad que la aplicación de torniquete sin presión controlada, como la práctica clínica habitual. Además, está disponible en todos los entornos de trabajo de la salud, al alcance del equipo enfermero. Se recomienda que la decisión sobre cuál de las intervenciones es preferible emplear, se base en el material disponible en la práctica clínica y, por ese motivo, se estima que la intervención 2 (alta presión) se debe usar preferiblemente debido a la poca frecuencia de los eventos adversos, su baja gravedad y simplicidad para resolver, el corto periodo de tiempo requerido para la canalización venosa y la disponibilidad de esfigmomanómetros en cualquier lugar de trabajo enfermero.

6.2.1.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS

Una limitación de este estudio es la ausencia de enmascaramiento de las intervenciones, pues no fue factible por la sensación de calor en el individuo y de aplicación del manguito del esfigmomanómetro. Tampoco fue posible determinar cuál de las tres intervenciones fue más efectiva en comparación entre ellas, pues en el ensayo las tres intervenciones fueron eficaces para canalización venosa, aunque el número reducido de tamaño muestral repartido en cada grupo de intervención pudo ser óbice para detectar diferencias, así como en el número reducido de casos al realizar cuatro grupos a través de la variable de estratificación de zona anatómica antebraquial.

Además, los voluntarios son recurrentes en este tipo de ensayos clínicos y conocen, de antemano, sus características venosas, demandando en algunos casos una punción en la flexura en el primer intento y, otros, en el segundo intento, mientras que en situaciones habituales en las que los sujetos no monitorizan la zona anatómica, aquellos casos que fueron canalizados en el primer intento en flexura, podrían ser latentes fracasos en el antebrazo distal o medial sin una solicitud previa del individuo, pues la canalización se enfoca, preferiblemente, en la zona distal del antebrazo. Por lo que, se considera una potencial infraestimación de la efectividad hallada.

En lo que refiere al tamaño muestral, fue limitado ($n = 59$) en comparación con estudios anteriores sobre canalización venosa periférica, realizada en adultos ($n = 72$)³⁴, o pacientes ($n = 136$)¹¹. Sin embargo, el tamaño muestral fue equivalente y, por lo tanto, comparable entre los grupos de intervención ($n = 21$, $n = 18$ y $n = 20$). A pesar del tamaño muestral, el hecho de que la intervención y el comparador se emparejaran y se llevaran a cabo en los mismos participantes redujo la variabilidad intraindividual de los datos de los participantes.

En este estudio no se midió la satisfacción de los individuos con cada intervención ni con el comparador. Tampoco se midió la satisfacción, ni comodidad, de aplicación de las intervenciones en los profesionales, pese a que las estrategias novedosas suelen cursar con un rechazo al inicio de la implantación.

Otra limitación, es que no fue viable monitorizar el tiempo que conlleva cada intervención y el comparador, desde el inicio, en la preparación del voluntario hasta conseguir la canalización, por constar de un equipo investigador reducido.

Tampoco se evaluó la presión mínima necesaria para obtener un resultado de efectividad, por lo que, se obtiene información de efectividad a 100mmHg, pero sería necesario otro estudio escalando la cantidad de presión para poder conocer el umbral de presión efectiva.

No fue posible medir la cantidad de parámetros sanguíneos para monitorizar sus alteraciones según la hemólisis de las muestras y, así, correlacionar si un aumento en absorbancia de hemólisis produce, de manera certera, una alteración de parámetros, tal y como lo realizan en otro estudio sobre hemólisis y alteración de constituyentes ³⁷, debido al limitado contenido plasmático remanente de las muestras de plasma obtenidas, con justificación de un ensayo clínico con medicamentos. De otra manera, habría sido necesaria obtener una muestra sanguínea adicional, exclusiva para el análisis de parámetros, lo que supone un aumento del presupuesto económico y viabilidad de aspectos éticos, según el volumen extraído en el ensayo clínico de bioequivalencia con medicamentos. Tampoco se realizó una inspección visual de las muestras obtenidas con las intervenciones y el comparador, pues no dispusimos de una escala visual validada, dado que dichas muestras fueron destinadas a la elaboración de una escala de detección visual de hemólisis.

En relación a las fortalezas, este estudio corresponde con el primer estudio, encontrado, aleatorizado controlado que compara el efecto de tres intervenciones de presión alta de estancamiento con o sin calor seco, con la presión aplicada según la práctica clínica habitual. Hasta el momento, este estudio es el primero en relación a los encontrados indexados en bases de datos, y segundo en relación a los encontrados en literatura no publicada ³⁵, que evalúa la percepción venosa de las intervenciones mediante una escala validada ¹², destacando el componente subjetivo y el criterio de evaluación enfermero.

Además, se ha evaluado el dolor causado por técnicas no farmacológicas efectivas (calor seco, con o sin presión alta controlada y práctica clínica) en adultos sanos, siendo la mayoría de los

estudios destinados a la evaluación del dolor en pacientes y niños. Se considera que la muestra de estudio es homogénea en edad y sexo, por lo que resultados con respecto al dolor pueden considerarse consistentes para extrapolar los resultados a la población adulta sana.

Se realizan recomendaciones factibles en relación con las situaciones prácticas de aplicabilidad de las intervenciones, tanto para emergencias o situaciones con limitaciones de recursos, como basadas en problemas de dolor y ansiedad.

El análisis ciego de la hemólisis en el plasma en muestras de sangre, así como el análisis de la relación entre el dolor percibido y la hemólisis son aspectos innovadores.

6.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN LAS VERSIONES DE LAS ESCALAS DEGRADAS DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS

6.2.2.1. DISCUSIÓN DE LAS TRES VERSIONES

6.2.2.1.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN

Visto el tamaño muestral que aborda cada estadio, se observa que, cuando son establecidos según la media aritmética, todos los estadios alcanzan, al menos 9 muestras de plasma. De otra manera, cuando son ajustados según las desviaciones típicas, no alcanzan el tamaño muestral fijado, por lo que el resultado de concordancias que se obtiene, en tales estadios, es exploratorio.

De acuerdo a lo mencionado, a pesar de que el objetivo principal es la probabilidad de la predicción visual de la magnitud de hemólisis clasificada en estadios en la actividad clínica, se ha considerado relevante evaluar el nivel de correctas clasificaciones entre la evaluación visual y el análisis de absorbancia, cuyo parámetro no esté condicionado por la prevalencia de intensidad de hemólisis correspondiente a cada estadio en las muestras de plasma, pues en los estadios extremos, aumenta el tamaño muestral.

Por lo tanto, el porcentaje de concordancias, de acuerdo a los estadios según la media aritmética, sólo en la escala teórica en el *re-test*, en el formato papel, se obtiene un porcentaje mayor del 70%, mínimo satisfactorio en proporciones. Este resultado se encuentra en consonancia con la forma en las que se distribuye el color en la escala del panel de expertos³⁹ y, de la misma manera, la que es utilizada por la mayoría de la investigaciones para la detección visual^{51,53}.

En conformidad a lo argumentado, un estudio detectó la presencia de hemólisis en el 60% de los muestras reclutadas, a través de la escala que provee el panel de expertos y la que sirve de base para el desarrollo en la escala teórica del presente estudio⁸⁵. Sin embargo, no se midieron las mismas muestras con un método de referencia, pues la escala visual, fue considerada como referencia. En un estudio de investigación que utilizó una escala visual similar a la del panel de expertos y, por tanto, a la teórica del presente estudio, comparó las muestras identificadas en los grados 6,7 y 8 de la escala utilizada en el estudio mencionado en un autoanalizador ADIVA 1800 el cual detectó la alteración de 25 constituyentes. En el resto de estadios no pudo ser identificado pues el analizador no detectó cantidades pequeñas, y se realizó una estimación teórica. Estos resultados, respaldan la pertinencia de una estimación teórica de ciertos valores cuando no es posible un análisis empírico. Sin embargo, no aporta una proporción de correctas

clasificaciones, sino que identifica las muestras, en gramos por decilitro (g/dl), a través del autoanализador. Posteriormente, clasifica las muestras según la escala, y analiza los constituyentes alterados de un total de 25, según la magnitud de hemólisis detectada ⁵¹. De manera similar, en otra investigación, utilizaron la escala del panel de expertos, sin resultar en porcentaje de concordancias. Sin embargo, se empleó para determinar, visualmente, si las muestras se encontraban hemolizadas, o no hemolizadas y, posteriormente, determinar si la presencia de hemólisis alteraba analitos de fármacos detectados a través de un método validado de cromatografía de líquidos con espectrometría de masas para los tres principios activos a analizar, frente a las muestras no hemolizadas según la escala visual, en las cuales se obtuvo unas cantidades de los tres principios activos no alteradas ($p>0,05$) en la determinación farmacocinética ⁵³.

El resto de escalas no obtienen una proporción de correctas clasificaciones satisfactoria según los observadores, a pesar de que la escala empírica en el *test*, en un soporte electrónico, alcanza un valor cercano al mínimo, del 67,5%.

Igualmente, los resultados de la escala realizada con imágenes de fotografías a tubos de plasma, se encuentran en consonancia con resultados obtenidos en otros estudios que utilizan ese tipo de escala visual. De tal manera que, en un estudio, se encontró un 46% de correctas clasificaciones entre una inspección visual directa a las muestras de plasma, sin imágenes, y, evaluando del 0 al 5 (desde no hemolizada al 100% hemolizado, respectivamente) la hemólisis detectada sin escala visual, frente a la detectada a través de microRNAs (miRNAs) ⁵⁶, la cual es de las técnicas más sensibles de detección, cuya alternativa ha sido reconocida la absorbancia por espectrofotometría. En otra investigación, se obtuvo un porcentaje de 31% de las muestras expresadas con hemólisis a través de inspección visual fueron mal clasificadas, es decir, un 69% fueron correctamente clasificadas en una escala con fotografías de 8 tubos de plasma, en las cuales cada tubo consistía en un estadio, siendo el primero no clínicamente hemolizado. Estos resultados no sólo concuerdan con los obtenidos, sino que, además, concuerdan con la pertinencia de realizar 7 estadios, tal y como reflejan las escalas ampliamente utilizadas, frente a 8, en los que los resultados no son satisfactorios. Por lo que, concluye, que no es un método que garantice la seguridad de los individuos ⁸⁶. En semejanza con el último estudio, y en contraposición con el presentado en este manuscrito, se detecta otra escala visual, de manera similar, a través de fotografías al contenido plasmático de 8 tubos, de acuerdo a la detección de magnitud de hemólisis en g/dl, son similar a la anterior escala mediante fotografías. A pesar de no medir las concordancias, informan que, en una baja concentración de hemoglobina libre en

plasma (<0,05 g/dl) el ojo humano es capaz de ver un color “rosáceo” que no indica cambios significativos en parámetros sanguíneos, a excepción del potasio y lactato deshidrogenasa ⁸⁷.

De acuerdo a la limitada detección de hemólisis a través de imágenes al contenido plasmático, en otra investigación, se han obtenido que en 1 gramo por litro (g/l) de hemólisis se relaciona con un 5% de aumento de la cantidad alterada del analito de zinc, tanto en suero como en plasma, y que, cuyo color en el modelo *Red, Green and Blue* (RGB) contiene los siguientes códigos: R=249, G=125, B=63, detectado a la fotografía del contenido plasmático a magnitud de hemólisis de 1 g/l ⁸⁸. Sin embargo, no calculan la proporción de concordancias entre ambas, ni la detección de zinc u otros parámetros sanguíneos en el resto de los 7 estadios a través de la escala, con fotografías que utilizan. A diferencia, la escala empírica en el presente estudio, se enfoca hacia una detección de la pertinencia de la muestra aislada para la determinación de varios parámetros sanguíneos, pues es habitual analizar varios constituyentes, en combinación en lugar de uno únicamente, para detectar el estado de salud de un sujeto.

Como se ha argumentado, la mayoría de las escalas abogan por elaborar 7 estadios para abordar el espectro completo, de tal manera que, en el máximo estadio, confluyen con la cantidad de 1000 en los índices de hemólisis ^{39,53}, así como los puntos de corte entre las bandas puntuales en relación a los valores de los índices de hemólisis que se han registrado el umbral que desencadenan alteraciones en los analitos y metabolitos ⁵⁴.

En afinidad entre el presente estudio y la anterior escala mencionada ⁸⁸, ha sido realizada la evaluación visual, en fotografías a tubos transparentes y de base plana. Además, han analizado el contenido de hemólisis en gramos por litro (g/l), en absorbancia y han evaluado el color en cada uno de los grados. Sin embargo, se mantiene la identificación a través de bandas de colores puntuales, en discordancia con las versiones de las escalas, que se ha mantenido una tira continua, y la medición molecular la han realizado en cada banda, en lugar de los límites inferior y superiores. En las mediciones de absorbancia han incluido, tanto la media aritmética, como la desviación típica de absorbancia correspondiente a cada banda. Dichos valores, respaldan la pertinencia del cálculo de los mismos en este estudio, sin embargo, a diferencia de la investigación mencionada en que figura un valor para cada banda, a pesar de que la clasificación de las muestras se ha llevado a cabo englobando entre las medias aritméticas de una banda y la siguiente, formulando rangos ⁸⁸, de manera parecida a las versiones de las escalas con los valores en los límites de cada estadio.

Además, en el estudio abogan por el uso de los colores según el triestímulo de RGB en el soporte electrónico, sin embargo, tal y como se expone en las notas de archivo (apéndice A), no se ha obtenido una trazabilidad bidireccional, por lo que se desestimó dicha metodología y se suplió por el tono del modelo HSL. Igualmente, utilizaron el mismo programa Adobe Photoshop® y la herramienta de cuentagotas (*picker*). Otra diferencia, evalúa la absorbancia de hemólisis a 540 nm⁸⁸, en lugar de en varias longitudes de onda de 414 nm, 385 nm y 750 nm.

En contraposición, los estudios mencionados han utilizado para la identificación de las muestras, indistintamente, en plasma y en suero^{39,51,54,57,86,88}. Sin embargo, en el presente estudio, en analogía con una investigación que ha sido fundamental para el desarrollo del presente trabajo, sólo ha utilizado un tipo de contenido sanguíneo. En ese caso fue suero⁵⁶ y, en el estudio desarrollado han sido muestras en plasma EDTA K2 y K3, en común con estudio de bioequivalencia que utilizó una detección de hemólisis visual a través de la escala del panel de expertos⁵³, con el tipo de color similar a la escala presentada con el nombre de “teórica” en este trabajo.

De la misma manera, las versiones “teórica” y “empírica” mencionadas, en los momentos y soportes indicados en la tabla 6, obtienen valores no satisfactorios, pero similarmente próximos al 70% cuando los estadios se ajustan según las desviaciones típicas, lo que podría indicar una necesidad de aumento de tamaño muestral en aquellos estadios en los que no alcanzan un mínimo de 9 muestras de plasma.

En relación a la versión de la escala identificada como “real”, es la versión con proporción de correctas clasificaciones más bajo y, por lo tanto, alejado del valor satisfactorio. En correspondencia con este resultado, no se ha hallado ninguna investigación en la literatura que utilice una escala de detección de hemólisis de aspecto de color similar. Como resultado, no es posible realizar comparaciones.

6.2.2.1.2. APLICABILIDAD

En relación a la aplicabilidad, no es posible desarrollar una aplicabilidad de aquellas escalas que, tras un análisis con un tamaño muestral adecuadamente abordado, no obtenga una proporción suficiente de correctas clasificaciones alcanzada. En relación a la versión teórica, que alcanza una suficiencia, se desarrolla la aplicabilidad en formato papel en el siguiente apartado 6.2.2.2.

6.2.2.1.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS

En relación a las limitaciones, no se ha obtenido el mínimo tamaño muestral en los estadios delimitados según las desviaciones típicas, pues se han reclutado en base a la media aritmética, en primera instancia. Además, no ha sido posible prolongar el trabajo de campo para adquirir las muestras restantes en los estadios según la desviación típica, por aspectos de logística en el Servicio de Farmacología Clínica. Como resultado, podría ser conveniente un estudio adicional para conseguir reclutar el número de muestras mínimo, según las desviaciones típicas, para su análisis confirmatorio.

Tampoco se ha podido llevar a cabo un análisis de validez divergente o convergente entre las 40 muestras de plasma que han sido evaluadas por la escala teórica y real en estadios de absorbancia delimitados por medias aritméticas, debido a la insuficiente proporción de correctas clasificaciones globales en la escala real.

De la misma manera, tampoco ha sido posible evaluar una equivalencia entre las mediciones de absorbancia de hemólisis en las muestras de plasma y la cantidad medida mg/dl de las mismas, pues la detección de hemólisis en mg/dl, en el departamento de análisis clínicos se realiza a través de citometría de flujo, cuyo límite mínimo de detección es de 30 g/dl de hemólisis. Además del presupuesto económico que supone, y de los recursos humanos, el volumen mínimo que se provee para la inspección visual es de 150 µl de contenido plasmático y, adicionalmente, 6 µl para el análisis de Nanodrop. No fue factible obtener 100156 µl (150 µl para la inspección visual y otros 100000 µl para el análisis de citometría de flujo, 6 µl para el análisis de absorbancia, y sin posibilidad de obtener muestras de reserva, que debieran ser de, al menos, 150 µl cada una). Todo este volumen, sin incluir la cantidad necesaria de hemoglobina libre en plasma de 30 g, independientemente, del volumen que pudiese ser recolectado.

En lo que refiere a las fortalezas, se ha obtenido unas correctas clasificaciones en la versión de la escala estrechamente similar al panel de expertos, en lo que refiere tanto al color, como al número de estadios, lo que afianza una admisión por parte de los profesionales para el empleo de esta escala en instituciones.

De la misma manera, las dimensiones y los márgenes en color blanco, facilitan el uso de la escala en la pluralidad de ámbitos.

6.2.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN LA ESCALA DEGRADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS DEFINITIVA (TEÓRICA)

6.2.2.2.1. REFLEXIÓN Y COMPARACIÓN

Obtenida una concordancia satisfactoria del 71,3% de las correctas clasificaciones en el *re-test*, en papel, entre el estadio visual de, al menos, una evaluación de los dos observadores, coincide con el estadio clasificado, según su valor de absorbancia en los estadios limitados acorde a la media aritmética. A pesar de que sólo se ha incluido una evaluación de la inspección visual en el análisis, se ha evaluado un acuerdo de las clasificaciones expresadas por los observadores y, por lo tanto, el acuerdo indirecto entre el estadio incluido en el análisis de concordancias y el que no se incluyó. Se observa que entre ellos existe acuerdo, pero moderado, por lo que aflora una variación del juicio entre observadores. Se considera que podría deberse a una ausencia de unificación del criterio, pues los observadores fueron formados, pero no entrenados en el criterio diferencial de los 7 estadios visuales del plasma. Hasta la actualidad, en el departamento en el que se ha desarrollado el estudio experimental, los observadores son profesionales entrenados en detección de hemólisis visual con un criterio basado en una imagen de fotografía a tres tubos de contenido plasmático. Así, se evalúa y se registra de manera cualitativa creciente de tres estados de la siguiente forma: +, ++, +++. A pesar de no ser el método más extendido, se encuentra en consonancia con la metodología utilizada en un estudio ⁴⁰. A diferencia del estudio mencionado y la práctica habitual del servicio, la clasificación cualitativa de la magnitud de hemólisis enunciada en la literatura es de 5 grados, en un símbolo acumulativo de “+” por cada grado en aumento. Sin embargo, los observadores incluidos en el experimento que concierne, estaban entrenados a 3 grados acumulativos de dichos símbolos. Por lo que, difieren los estadios a clasificar las muestras, tanto las utilizadas en otro estudio, como en el método en el que estaban entrenados y, así como un aumento de estadios en la escala teórica, lo que puede dificultar las decisiones entre estadios adyacentes.

Sin embargo, en relación a la fiabilidad intraobservador en ambos observadores, los resultados muestran acuerdos moderados, por lo que las clasificaciones de las muestras de plasma visualmente mantienen un criterio moderado de lo que evaluaron en el *test* y *re-test*. En consonancia con la fiabilidad interobservador, la dificultad estriba en la decisión de clasificación visual de un estadio cuando se encuentran aumentados frente a lo habitual (7 frente a 3). Por lo tanto, los resultados de la fiabilidad intraobservador son poco robustos, lo que confirma la pertinencia del uso de sólo una observación en el análisis de concordancias, y evoca la necesidad de un entrenamiento previo en el uso de la escala definitiva, y los resultados de la fiabilidad intraobservador sugieren solidez de las clasificaciones de cada observador basado en un

entrenamiento en la inspección visual del contenido plasmático y la hemólisis, a través de tubos y una imagen.

En lo que refiere a la estabilidad del instrumento, se obtiene una estabilidad del 99,5% las de las mediciones realizadas, tanto de las muestras, pues la mayoría sólo precisaron las tres mediciones planeadas, como del instrumento. Los resultados encontrados se encuentran en consonancia con la estabilidad, expresada a través de la observación, en una investigación que comparó varios métodos de detección de hemólisis, y observó estabilidad en sus dos mediciones de espectrofotometría por muestra de plasma a través de un promedio de las mediciones por muestra ⁵⁶, en común con la metodología utilizada en este estudio. De manera similar, en otro estudio, se obtuvo valores de hemólisis en varias muestras de plasma con un incremento de la cantidad de hemólisis con una adición de porcentaje de lipemia seriada ascendente, en las que, se obtuvo un resultado de diferencias ínfimas entre ellas (media=0,102, CV= 1,06), controlado con una contabilidad de glóbulos rojos, cuyo método no interfiere en la lipemia y aplicando el factor de corrección de lipemia empleado en el presente estudio ⁵⁷.

La heterocedasticidad significativa encontrada entre los estadios, respalda la idoneidad de los mismos de acuerdo a una magnitud de hemólisis subyacente, significativa, en cada estadio. El resultado obtenido se encuentra en común con un estudio, el cual utiliza una escala visual para la determinación de la cantidad de hemólisis en g/l según los 7 estadios de la escala, y posteriormente, la medición de la cantidad de un ion, en la cual, se obtiene un aumento del ion a lo largo de los siete grados de bandas visuales, a diferencia de la escala visual definitiva de colores continuos, obtuvieron una diferencia significativa de la concentración del ion según magnitud de hemoglobina en los últimos cuatro estadios, formados por cinco bandas de colores ($p<0,05$) ⁸⁸. No se encontraron estudios que analizaran las diferencias significativas de magnitud de hemólisis en la escala del panel de expertos, por lo que no es posible realizar una comparación con estos resultados obtenidos, aunque es posible realizar una aproximación entre el resultado significativo obtenido, y el mencionado del anterior estudio ⁸⁸.

Asimismo, se obtuvo una correlación fuerte ascendente entre los estadios visuales y las absorbancias, que no es posible llevar a cabo una comparación de los resultados con otros estudios. Sin embargo, el siguiente estudio merece una mención, pues utilizó mediciones de absorbancia a través de espectrofotometría, y observó una correlación alta ($r^2>0,998$) entre las mediciones de absorbancia y la referencia que utilizaron de porcentaje de magnitud a través de la contabilidad de glóbulos rojos ⁵⁷.

En relación a las desviaciones típicas de las muestras de plasma incluidas en cada estadio, se observa un aumento de las desviaciones típicas a medida que aumentan los estadios. Sin embargo, el ascenso de la variabilidad de los datos, no es lineal, de tal manera que los estadios en los que han incluido menos muestras de plasma, las desviaciones típicas se encuentran reducidas frente a los estadios 1 y 7, en los que se ha reclutado mayor número de muestras de plasma. Se observa una variabilidad de los datos superior a las esperables en los estadios adyacentes a los estadios con un tamaño muestral mínimo.

En lo que respecta a la validez de apariencia, la relevancia clínica entre los estadio 1 y 2, se respalda en investigaciones en las que, en sus escalas, se observa que en el estadio 1, calificado con menor cantidad de hemolisis de 0,25 g/l no se han encontrado parámetros con una cantidad alterada por magnitud de hemoglobina libre en plasma inferior al límite mencionado ⁸⁶. En semejanza, en escalas similares a la utilizada por panel de expertos, con un grado más de prolongación pero, equivalente, el primer y segundo grado, con bandas puntuales de colores, en el que enuncia la magnitud de hemolisis clínicamente significativa a 0,26 g/l estableciendo dicha cantidad en el segundo grado ⁵¹. De manera similar, un estudio afirma que la hemólisis es definida como la concentración mínima de hemoglobina libre a partir de 0,3 g/l ⁴⁰. La escala del panel de expertos establece en el estadio 2 un valor de 0,20 g/l, sin aportar información sobre componentes alterados a dicha cantidad ³⁹. Por lo que, en cómputo total, se establece a 0,25 g/l por aportar información de alteraciones en un interferograma ⁵¹, afirmar que a cantidades menores de 0,20 g/l la detección visual es limitada ⁴⁰, y en adherencia de las mencionadas investigaciones al panel de expertos en una diferencia de 0,05 g/l. Debido a que dichas unidades de g/l no se declara entre las unidades de medición con mayor precisión diagnóstica ⁵⁶, es aceptada dicha variabilidad. Asimismo, la adecuación de distribuir el espectro de la magnitud ascendente de hemólisis a lo largo de 7 estadios, ha sido abordada en el apartado anterior, en relación con la cantidad en índices de hemólisis a la que se ha registrado que se desencadenan alteraciones de sustancias ⁵⁴ y se relaciona con los puntos de corte de la mayoría de los estudios consultados ^{39,53,85,88}.

En correspondencia con la representación del espectro de la intensidad de hemólisis, a lo largo de los 7 estadios, se examina la conveniencia de las muestras de plasma halladas en el trabajo de campo para la representación del total de espectro, a través de KMO=0,715, de mínima cantidad de hemólisis sin relevancia clínica hasta una cantidad de hemolisis alta, medido en absorbancia, que desencadena la alteración de la pluralidad de determinaciones sanguíneas.

Este resultado no es posible compararlo con otros estudios, pues no se ha hallado artículos que enfoquen sus objetivos hacia la validación de métodos de detección de la magnitud de hemólisis, si no de la validación de métodos para la detección de parámetros sanguíneos específicos, bajo la alteración desencadenada por la presencia de hemólisis en las muestras ^{51,88}.

La unidimensionalidad del constructo de hemólisis, controlada de bilirrubinemia y de lipemia, hallada en el presente estudio, se respalda por las variables utilizadas en otros experimentos, por ejemplo, en el mencionado estudio en el que detectan la hemólisis a través de espectrofotometría, utilizan el factor de corrección de lipemia empleado en este trabajo, aumentan la lipemia añadiendo porcentajes escalados de un preparado (Lipofundin®) a muestras de diferentes cantidades de hemólisis y controlado de bilirrubina, por lo que eliminan la interferencia de la lipemia añadida, a través de una fórmula y, sin embargo, la bilirrubina la controlan por una ausencia de fórmula correctora para, finalmente, obtener la medición del concepto de hemólisis real ⁵⁷. Por lo tanto, una disociación de las variables de bilirrubina y lipemia de la hemólisis no altera el constructo del mismo, si no que evita sesgos por ser variables que no pertenecen al concepto de la hemoglobina libre en el plasma, si no interferencias ⁵⁸.

En relación a la validez de criterio, pese a que la validez del *re-test* se realiza la inspección visual, en el mismo día que la evaluación de absorbancia en espectrofotometría, con lleva un componente predictivo, pues la inspección visual se realiza, aproximadamente, en las 4h previas al análisis de absorbancia. Se obtiene una proporción de concordancias suficientemente satisfactoria, del 71,3%, de manera global. A pesar de que la sensibilidad es del 64,6%, no alcanza el valor necesario, se encuentra en consonancia con los valores de otro estudio, de baja sensibilidad ($S=0,250$) de absorbancia en muestras de plasma determinadas sin hemólisis visualmente, y clasificadas de bajo riesgo de alterar parámetros sanguíneos según miRNAs en 77 muestras, e igualmente, una sensibilidad baja ($S=0,333$) cuando las muestras no fueron detectadas, visualmente, hemolizadas en 77 muestras clasificadas de alto riesgo según miRNAs, y, también, baja sensibilidad de absorbancia ($S=0,484$) en 86 muestras, las cuales fueron visualmente detectadas como hemolizadas y clasificadas con un alto riesgo según la evaluación de miRNAs ⁵⁶. No obstante, el resto de parámetros de especificidad, VPP, y precisión en la clasificación obtuvieron resultados satisfactorios, en inclinación a los resultados del estudio mencionado anteriormente ⁵⁶, a excepción del VPN de este trabajo que resulta en un 44,7%. Los resultados se encuentran, la mayoría, en común con el estudio mencionado de manera global, pues evalúa los datos obtenidos de absorbancia, miRNAs y visualmente en muestras clasificadas como “claras” sin hemólisis, o con contenido de hemólisis, de manera dicotómica, a diferencia

de la escala definitiva. Como resultado de muestras sin impacto de hemólisis, se muestran, más adelante, los resultados obtenidos en cada estadio, respecto del estadio 1, clínicamente no significativo. No han podido ser comparados con el anterior estudio a causa de la medición ordinal ascendente del constructo, ni con otros estudios por no hallar en la literatura investigaciones que, aunque escalan el espectro en 7 estadios, no evalúan parámetros de validez de la hemólisis.

Visto que cada uno de los estadios, respecto del 1, obtienen correctas clasificaciones aceptables, a excepción del estadio 4, el cual no alcanza dicho valor en la proporción, con un valor de 60,0% de concordancias, no sólo próximo al valor mínimo, sino que el valor de 0,70 se encuentra entre los posibles valores de concordancias recogidos en el intervalo, en la muestra estudiada, con una probabilidad de acierto del 95%. Además, el estadio 4 mantiene una relación fuerte ($\rho=90\%$) entre los valores de la evaluación visual y análisis de absorbancia, lo que sugiere una robusta orientación de los parámetros potencialmente alterados al alcanzar la intensidad de hemólisis correspondiente al estadio 4. Adicionalmente, todos los estadios son útiles para la detección de la ausencia de hemólisis con impacto clínico; especificidad de 100% y falsos positivos del 0%. La sensibilidad es satisfactoria de todos los estadios ($\geq 70\%$), excepto el estadio 4 (30,0%) y 6 (25,0%). La tasa de falsos negativos es pequeña, excepto en los estadio 4 (70,0%) y 6 (75,0%), en éste último, se encuentra el valor de 0,70 entre los posibles valores del intervalo de la sensibilidad al 95% de confianza. Todos los estadios predicen la magnitud de hemólisis correspondiente, adecuadamente, frente a la ausencia de la misma en el estadio 1. En lo que refiere a la predicción de ausencia de hemólisis, a pesar de la baja predicción de la ausencia clínicamente relevante en muestras de plasma globalmente ($VPN \leq 70\%$), probablemente ha sido influenciada por la baja prevalencia, pues en el análisis específicas de cada estadio, del 2 al 7, todos detectan satisfactoriamente la ausencia, frente a la existencia de cada magnitud de hemólisis correspondientes a los estadios individuales del 2 al 7 frente al 1.

En relación a la extrapolación de los resultados obtenidos en el trabajo de campo se expresa la probabilidad de identificación de muestras libre de hemólisis frente a la magnitud de hemólisis correspondiente en cada estadio: el hallazgo de ausencia de hemólisis clínicamente relevante frente al resto de estadios, globalmente, es de 2,82 veces más frecuente, en las muestras sin hemoglobina en plasma, que identificar, erróneamente, las muestras que lo contienen en una cantidad con impacto clínico. En el estadio 2, frente al 1, el hallazgo de una muestra sin hemólisis es 5 veces más frecuente en dichas muestras, que obtener un falso negativo. En el estadio 3, es de 10 veces más frecuente el hallar un verdadero negativo de muestras sin hemólisis con

impacto clínico, visualmente, respecto a falsos negativos de muestras que, si contienen una magnitud de hemólisis en absorbancia correspondiente al estadio 3. En los estadios 5 y 6, equivalente entre ambos, la frecuencia de detección visual correcta sin hemólisis es de 4 veces más, frente a la identificación falsa de magnitud de hemólisis correspondiente a la absorbancia encuadrada en los estadios 5 y 6. El estadio 4, es el que menor frecuencia, de 1,4, en hallar un verdadero negativo y, por lo tanto, aumenta la probabilidad de identificarlo con un falso negativo, visualmente, cuando su magnitud de hemólisis corresponde con una absorbancia de estadio 4. De otra manera, el estadio más fiable de detección de ausencia de hemólisis y obtener parámetros sanguíneos sin sesgos es el estadio 7, pues la probabilidad de identificación de un falso negativo, respecto a la máxima magnitud de hemólisis, visualmente es nula. Por lo que, todos los estadios indican una característica discriminativa robusta y, en particular, el estadio 4, contiene un componente discriminativo reducido.

La ausencia de exposición a una magnitud de hemólisis de estadio 2 o más, corresponde al factor protector del estadio 1 para los resultados de los parámetros sanguíneos obtenidos de los usuarios. Por lo que, el riesgo de obtener resultados sin sesgos, es del 65% mayor en una muestra no expuesta a una cantidad de hemólisis con relevancia clínica, frente a la exposición de hemólisis en las magnitudes del estadio 2 al 7. El riesgo de obtener resultados sin sesgos, es de 4,74 veces más en una muestra no expuesta a una cantidad de hemólisis con relevancia clínica, frente a la exposición de la magnitud del estadio 2. De manera similar, el riesgo de obtener resultados sin sesgos, es de 6 veces más en una muestra no expuesta a una cantidad de hemólisis con relevancia clínica, frente a la exposición de hemólisis en magnitud de hemólisis correspondiente al estadio 6. El riesgo de obtener resultados sin sesgos, es de 2,14 veces más en una muestra no expuesta a una cantidad de hemólisis con relevancia clínica, frente a la exposición de magnitud de hemólisis correspondiente al estadio 7. Finalmente, el riesgo de obtener resultados sin sesgos, es de 16 veces más en una muestra no expuesta a una cantidad de hemólisis con relevancia clínica, frente a la exposición de magnitudes de hemólisis correspondientes a los estadios 3 y 5, de manera equivalente.

En lo que refiere a la validez de constructo, a pesar de no realizar una prueba de hipótesis, la premisa incluida en la metodología para abordar la validación de la escala, globalmente y, en cada estadio, específicamente, cumplen satisfactoriamente con las correctas clasificaciones. A excepción, del estadio 4, como se ha comentado anteriormente, a pesar de que se encuentra estrechamente relacionado con las clasificaciones según la percepción visual y la absorbancia. Todos los estadios, alcanzan un VPP en la muestra superior al valor fijado de, al menos, el 85%,

por lo que, se podría rechazar la hipótesis nula y aceptar la alternativa. Sin embargo, se considera que, para ello, debería cumplir la primera premisa explicitada al inicio. Como resultado, no se rechaza la hipótesis nula por una ausencia de concordancias de, al menos un 70% en el estadio 4, sin embargo, se considera que los valores obtenidos son suficientes para reflejar adecuadamente el constructo de hemólisis a través del uso visual de la escala definitiva, y permite discriminar entre magnitudes de hemólisis y, aún más, cuando una muestra no conlleva un impacto relevante clínico.

Por lo tanto, se obtiene una escala definitiva, en la que las líneas de los tonos de colores y los límites de absorbancia son validados, provee probabilidades de identificación relacionado con el impacto clínico en los estadios que, a excepción del estadio 4, el cual sólo podría suponer una aproximación, es posible implementar en otros ámbitos. Por lo que, se adhiere a la seguridad de los sujetos en lo que refiere a esclarecer los parámetros sanguíneos, verazmente alterados que refleja el estado fehaciente del sujeto, frente a alteraciones sesgadas que no representan el estado de salud. Adicionalmente, su uso es factible, lo que garantiza una implantación en instituciones o departamentos, por un bajo coste, formación de 10 minutos, en combinación recomendada con un entrenamiento previo, en personal habituado al ámbito de laboratorio con muestras plasmáticas, y el uso de evaluación visual, conlleva un promedio de 12 segundos, máximo de 20 segundos, por muestra de plasma.

6.2.2.2.2. APLICABILIDAD

Como se ha argumentado anteriormente, la imposibilidad de contrastar los resultados obtenidos de la validación de la escala cumple con las requisitos de patentabilidad, título 2, artículo 4, de la Ley 24/2015, del 24 de julio, de Patentes⁸⁹. Por ese motivo, no sólo se crea el dispositivo de la escala, sino que también se formula el procedimiento para un uso adecuado del recurso proporcionado. De tal manera que se lleva a cabo una solicitud de patente con el título de: *Procedimiento y dispositivo para la detección visual del grado de aptitud de una muestra aislada de sangre para su validación en análisis clínicos* con el código de P201900050, y fecha de admisión a trámite a 29 de Marzo de 2019 (anexo III). El contenido reflejado a lo largo del manuscrito en relación al procedimiento y la escala para detectar el grado de aptitud de una muestra aislada de sangre para su validación en análisis clínicos en función del grado de hemólisis, forman parte de la mencionada solicitud de patente en tramitación.

A continuación, se refleja el procedimiento de uso del dispositivo comentado en la discusión de sus resultados. Los parámetros que se han documentado como potencialmente alterados en muestras sanguíneas con hemólisis, en función de la intensidad de hemólisis medido en mg/dl

en contenido de desoxihemoglobina ⁵⁴, en relación al contenido en mg/dl registrados, se encuentran englobados en cada uno de los estadios de la escala definitiva. Los datos se representan de la siguiente manera: parámetros potencialmente alterables (número de estadio que engloba todos los analitos anteriores); (número de otros estadios cuyos parámetros están potencialmente afectados).

- Estadio 1. Hidroxibutirato Deshidrogenasa (1)
- Estadio 2. Aspartato aminotransferasa (2); (1).
- Estadio 3. Bilirrubina total (3); (2); (1).
- Estadio 4. Alanina Aminotransferasa; pseudocolinesterasa no inhibida e inhibida por dibucaína; Creatinina quinasa; Etanol; Gamma-Glutamiltransferasa; Hierro; Amoníaco (4); (3); (2); (1).
- Estadio 5: Ferritina; Mioglobina; Fosfato (inorgánico); Factores reumatoídes (5); (4); (3); (2); (1).
- Estadio 6: Alanina aminotransferasa; Complemento C4; Colesterol total; Proteína C reactiva; Receptor soluble de la transferrina; Triglicéridos; Ácido valproico; Vancomicina (6); (5); (4); (3); (2); (1).
- Estadio 7: alfa1-Glucoproteína ácida; Alfa 1-Antripsina; Albúmina; Apolipoproteína A-1; Apolipoproteína B; Antiestreptolisina O; Carbamacepina; Creatinina; Proteína C reactiva ultrasensible; Digoxina; Gentamicina; Glucosa HK; Colesterol HDL; Inmunoglobulina A; Inmunoglobulina G; Inmunoglobulina M; Litio; Fenobarbital; Fenitoína; Salicilato; Teofilina; Proteína total; Ácido úrico; Urea/BUN (7) ; (6); (5); (4); (3); (2); (1).

De acuerdo a los parámetros potencialmente alterados, se exponen supuestos sobre el procedimiento a seguir para el uso adecuado del dispositivo:

En el supuesto en el que el plasma de una muestra de sangre aislada sea objeto de análisis de parámetros de los enunciados en el párrafo anterior, se evalúa visualmente su intensidad de hemólisis y se asigna a uno de los 7 estadios. Posteriormente, será analizada y el resultado de cada parámetro alterado podrá ser evaluado en combinación con el estadio al que había sido asignada. El número de estadio al que se asigna la muestra debe acompañar al resultado de los parámetros evaluados en el informe, a modo de alerta para el responsable de la validación de resultados. Así, los resultados serán validados o desestimados si, no encontrándose en un rango de normalidad, su correspondiente estadio de hemólisis alcanza una intensidad suficiente como para ser compatible con una alteración potencial de los resultados.

En el supuesto en el que el plasma de una muestra de sangre aislada sea objeto de análisis de parámetros adicionales a los enunciados en el párrafo anterior, el procedimiento de uso del dispositivo es el mismo que se ha enunciado en el párrafo anterior, cuando el análisis se destina únicamente a parámetros englobados en los 7 estadios.

De la misma manera, si los resultados de un parámetro no se encuentran en el rango de normalidad y, para esa muestra, el estadio de hemólisis no es compatible con una alteración esperada de esos resultados observados, se determina la alteración fisiológica o patológica del paciente y, por lo tanto, se elimina la necesidad de repetir una muestra y se reducen costes.

En el supuesto en el que una muestra de plasma de sangre aislada sea objeto de análisis de analitos de principios activos de fármacos, como en los ensayos clínicos, la intensidad de hemólisis suficiente para desencadenar una alteración del analito, facilita la elección de muestras finales a analizar. De tal manera que evita sesgos en los resultados de investigación en fármacos y costes del análisis de muestras no válidas.

Como resultado del procedimiento de la invención, para un parámetro alterado compatible con alteración por hemólisis según el estadio de la escala degradada al que se asigna, el responsable de validación del laboratorio puede emitir el juicio de sospecha de una alteración de la muestra de plasma y no a una potencial patología del paciente, o bien, puede emitir un juicio de resultados alterados no esperables por cierta intensidad de hemólisis en la muestra. Por lo tanto, mediante el procedimiento de la invención el responsable del análisis clínico puede decidir la conveniencia o desestimar la necesidad de realizar un segundo análisis de una segunda muestra de sangre aislada.

6.2.2.2.3. LIMITACIONES Y FORTALEZAS

No se pudo calcular la razón de verosimilitud positiva (LR+) pues, tanto globalmente, como en el análisis específico de cada estadio, la TFP fue de 0,000, a causa del valor de 100% de la especificidad, cuyo valor de TFP corresponde con el denominador de la fórmula matemática de LR+.

Asimismo, no se pudo evaluar la validez convergente entre los límites validados de la escala definitiva y los límites de la escala del panel de expertos. A pesar de que las medidas son diferentes, en el caso de haber podido realizar un análisis de hemólisis en mg/dl, tal y como se expone en el apartado 6.2.1.3., de las muestras utilizadas en la prueba de validación visual y en espectrofotometría, se podría haber evaluado el uso indiscriminado de ambas escalas, o de otra

manera, una validez divergente para indicar el uso distinguido entre escalas, a favor de la escala validada presentada en este estudio.

Otra limitación de la escala definitiva, es su indicación de uso para la detección de hemólisis en contenido plasmático y, no así en suero. Por lo que sería necesario, realizar otro estudio de investigación para validar su uso visual en contenido sérico y, por lo tanto, añadir la indicación de uso en análisis bioquímicos, al análisis de hemograma.

En el presente estudio experimental, no se ha analizado la alteración de los parámetros en cada estadio, se ha realizado una estimación con los estadios formulados. No se han incluido pacientes, por lo que convendría realizar otro estudio experimental con la escala definitiva, para conocer si es válida en muestras de plasma de pacientes que refleje los parámetros alterados de enfermedades no controladas de manera certera, para encaminar estrategias de adhesión terapéutica y, así, reducir costes derivados de errores de identificación del estado de cada enfermedad que se visibilice a través de los parámetros sanguíneos enunciados anteriormente.

Tampoco se pudo realizar un trabajo de campo de inspección visual en muestras hemolizadas con bilirrubinemia considerados anormales para observar si dichas muestras con interferencia visual serían clasificadas, visualmente de forma correcta en el estadio correspondiente, según la escala definitiva, cuyo análisis de hemólisis se encuentre, igualmente, corregido en lipemia y, pues la máxima expresión de bilirrubina en longitud de onda, no confluye con las máximas expresiones de hemólisis, y aplicando el factor de corrección de lipemia. Para esto, sería necesario llevar a cabo otro estudio experimental en el que, no sólo se detecte las concordancias visual con interferencias y de absorbancia, sin interferencias, en unas muestras que, así, acoge un espectro más amplio de posibilidades de muestras sanguíneas para poder extrapolar los resultados a mayor parte de la población, tanto en la práctica clínica como en la investigación. En cada muestra, con su correspondiente clasificación en un estadio, sería útil analizar los parámetros alterados con impacto clínico.

En relación a las fortalezas, la detección visual de hemólisis, a través de la escala definitiva, podría beneficiarse de su uso en población adulta y mayor sana en ayunas. Incluso, en pacientes, también podrían ser sus muestras sanguíneas empleadas en la detección visual de hemólisis, a pesar de ser necesaria una evaluación individualizada del caso, por algún potencial factor confundente en la muestra sanguínea. Sin embargo, los pacientes también podrían beneficiarse del uso de detección visual de la escala definitiva, pues podría suponer una aproximación de la

magnitud de hemólisis real en la muestra, encaminado hacia el incremento de la seguridad de pacientes e individuos sanos.

Otra virtud de la escala definitiva, es la estimación realizada de los parámetros potencialmente alterados se ha llevado a cabo a través de los índices de hemólisis que, a pesar de no ser la técnica más sensible y precisa, es la que, actualmente, utilizan los laboratorios clínicos externos a los hospitales, a través del sistema analizador Cobas © de Roche ⁵⁴.

En tendencia a lo expuesto, en la escala se ha utilizado como medición de referencia la segunda medición más precisa que actualmente existe y, de manera exclusiva, todas las muestras han sido de contenido plasmático para evitar factores confundentes. De la misma manera, el factor de corrección de lipemia provee de valores de hemólisis no sesgados, a diferencia de los obtenidos hasta la actualidad a una longitud de absorción de 414 nm⁵⁶. Adicionalmente, los valores obtenidos son más precisos, también, que la cantidad analizada en mg/dl ⁴⁰.

A pesar de que la escala tampoco es igual de precisa que el sistema que ofrece Roche, sí supone una alternativa para aquellos departamentos que, bien por el limitado espacio de infraestructura no pueda ser beneficiado del sistema Cobas© o, bien por el presupuesto económico, como en investigaciones independientes, pueda realizarse una aproximación para decidir qué resultados alterados pueden no provenir del sujeto y estar sesgados por una suficiente cantidad de hemólisis en las muestras. Además, se puede transportar para el uso en investigaciones multicéntricas, los cuales son altamente recomendados, siempre y cuando las condiciones de su uso, tanto físicas respecto a la luz artificial y la posición de los observadores, como del procedimiento del uso adecuado de la escala.

7. CONCLUSIONES

1. El protocolo de ensayo clínico con productos sanitarios, es una herramienta útil para obtener resultados de efectividad en canalización venosa antebraquial, hallazgos del impacto en aspectos clínicos y, para la elaboración de versiones de escalas de intensidad visual de hemólisis, garantizando la seguridad de los sujetos y ética en la investigación clínica.
2. La aplicación de todas las intervenciones de calor y/o presión son efectivas en canalización venosa antebraquial, frente a la práctica clínica habitual, agudizan la percepción venosa superficial antebraquial, son seguras para los individuos tanto por la baja aparición de eritema local y parestesia transitoria, como por la adherencia a la seguridad de los individuos sin aumentar la hemólisis en las muestras sanguíneas. Las intervenciones, son no farmacológicas, accesibles, de bajo coste, sin entrenamiento previo, el equipo enfermero se encuentra familiarizado con su uso y son aplicables a toda la población con una percepción venosa superficial sana.
3. La intervención más efectiva y menos dolorosa es la intervención con presión de estancamiento alta. La segunda intervención más efectiva es la intervención de calor tópico seco y la menos atenuante de dolor. Por último, la intervención combinada es la menos efectiva, aunque es la segunda menos dolorosa.
4. El uso de la intervención de la presión de estancamiento alta se propone para situaciones de actuación ágil. El uso de la intervención combinada se destina al uso de canalización venosa comprometida o en situaciones de canalización en el antebrazo distal. El uso de la intervención de calor se enfoca a situaciones no comprometidas, disponibilidad de tiempo y que requieran un soporte adicional.
5. La escala visual definitiva de intensidad de hemólisis, a lo largo de siete estadios, es válida para reflejar la magnitud de hemólisis en muestras de plasma. El uso de la escala es factible en todos los ámbitos de laboratorio clínico, debido al reducido espacio que requiere, es transportable, de bajo coste, con formación breve y entrenamiento previo de profesionales habituados en la detección de hemólisis.
6. La escala visual supone una alternativa en la determinación del grado de aptitud de muestras de plasma para la validación de los resultados en análisis clínicos. Permite decidir parámetros sanguíneos que exceden de los rangos de normalidad, son parámetros sesgados por la presencia de cierto grado de hemólisis. Facilita la desestimación o la pertinencia de

repetición de muestras, así como la eliminación de muestras sesgadas en la investigación, lo que podría reducir costes.

v. GLOSARIO DE ABREVIATURAS

En símbolos o abreviaturas en idioma inglés se refleja lo siguiente: (Traducido en español).

AEMPS: Agencia Española del Medicamentos y Productos Sanitarios.

BOE: Boletín Oficial del Estado.

C: Concordancias.

©: *Copyright* (Obra original sujeta a derechos de autor).

CCI: Coeficiente de correlación intraclase.

CEIm: Comité de Ética de la Investigación con medicamentos.

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute* (Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio).

CRD (s): Cuaderno (s) de recogida de datos.

E: Especificidad.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

EVA: Escala Visual Analógica.

G: Gauges.

°: Grado.

°C: Grados Celsius.

g/dl: gramos por decilitro.

g/l: gramos por litro.

HSL: *Hue, Saturation and lightness* (Tono, saturación y luminosidad).

IA: Incidencia acumulada.

IC: Intervalo de Confianza.

IMC: Índice de Masa Corporal.

ISO: *International Organization for Standardization* (Organización Internacional de Normalización).

Kg/m²: kilogramos por metro cuadrado.

K: Kappa.

K2/K3: dipotásico/ tripotásico.

LR (+): Razón de Verosimilitud Positiva.

LR (-): Razón de Verosimilitud Negativa.

μl: microlitro.

miRNAs: *MicroRNAs* (MicroARNs).

ml: mililitro.

mm: milímetro.

mg/dl: miligramos por decilitro.

mmHg: milímetro de mercurio.

nm: nanómetro.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: *Odds-ratio* (Proporción de probabilidades).

®: *Registered* (Marca comercial registrada).

RGB: *Red, Green and Blue* (Rojo, Verde y Azul).

Rho: Correlación de Spearman.

RR: Riesgo relativo.

S: Sensibilidad.

TAM: Tensión Arterial Media.

™: *Trademark* (Marca comercial no registrada).

TFN: Tasa de Falsos Negativos.

TFV: Tasa de Falsos Positivos.

TVN: Tasa de Verdaderos Negativos.

TVP: Tasa de Verdaderos Positivos.

VIA: *Venous International Assessment* (Evaluación Venosa Internacional).

VPN: Valor Predictivo Negativo.

VPP: Valor Predictivo Positivo.

vi. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Absorbancia: intensidad de luz que la hemoglobina retiene, la cual corresponde de manera opuesta a la luz visible ultravioleta recibida por espectrofotometría ⁵⁷.

Analito: *componente (elemento, compuesto o ión) de interés analítico de una muestra. Son especies químicas cuya presencia o concentración se desea conocer, es decir, se puede determinar su cantidad y concentración en un proceso de medición química, [...]* ⁹⁰.

Anonimizado: *dato que no puede asociarse a una persona identificada o identificable por haberse destruido el nexo con toda información que identifique al sujeto, o porque dicha asociación exige un esfuerzo no razonable, entendiéndose por tal el empleo de una cantidad de tiempo, gastos y trabajo desproporcionados* ⁷¹.

Anónimo: *dato registrado sin un nexo con una persona identificada o identificable* ⁷¹.

Bilirrubinemia: *Nivel de bilirrubina en la sangre* ⁹¹.

Citometría de flujo: *analiza las características físicas y químicas de partículas (generalmente células) suspendidas en un fluido haciéndolas pasar por delante de un láser alineadas de una en una. Los componentes celulares que han sido marcados con fluorocromos con anterioridad son excitados por el láser, emitiendo así luz en diferentes longitudes de onda. Estas señales se corresponden con diferentes parámetros celulares que son recogidas por distintos detectores* ⁹².

Constructo: *Construcción teórica para comprender un problema determinado* ⁹³.

Cromatografía de líquidos con espectrómetro de masas: *técnica analítica que combina la cromatografía (de líquidos o de gases) como técnica de separación, y la espectrometría de masas [...]. La Espectrometría de Masas es una potente técnica instrumental de análisis, de alta sensibilidad, basada en la ionización de las moléculas y en la separación y registro de los iones producidos según su relación masa/carga en un sistema a vacío* ⁹⁴.

Eritema local: *Enrojecimiento de la piel o de una mucosa debida a un aumento de sangre en los pequeños capilares* ⁹⁵.

Espectrofotometría: *procedimiento analítico para medir la cantidad de luz absorbida por una sustancia con respecto a una longitud de onda determinada* ⁹³.

Hemólisis: proceso de destrucción de los hematíes, que conlleva la liberación del contenido intraeritrocitario en el plasma alterando su composición. La principal molécula intraeritrocitaria es la hemoglobina [...] ⁴⁰.

Lipemia: Presencia de lípidos (colesterol, triglicéridos y fosfolípidos) en la sangre [...] ⁹⁶.

Metabolito: Producto del metabolismo ⁹³.

MicroRNAs: pequeñas moléculas de ARN endógenas que, principalmente, reprime la expresión génica [...] El contenido de microRNA liberado de las células sanguíneas tras la hemólisis pueden alterar la expresión de ciertos microARN, que conduce a un falso biomarcador de ARNm. La proporción de miR-451a enriquecido en glóbulos rojos con respecto a miR-23a, este último microARN no se ve afectado por la hemólisis, se utiliza como un indicador sustituto de la hemólisis ⁵⁶.

Modificación sustancial: Todo cambio de cualquier aspecto del ensayo clínico que se realice tras la notificación de la decisión a que se hace referencia en los artículos 8, 14, 19, 20 o 23 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, y que pueda tener repercusiones importantes en la seguridad o los derechos de los sujetos de ensayo o en la fiabilidad y solidez de los datos obtenidos en el ensayo clínico ⁶⁸.

Parestesia transitoria: Se comprende como la sensación de entumecimiento y hormigueo producido por patología o presión en el sistema nervioso o circulatorio ^{93,97}.

Percepción venosa: Se considera como la palpación del estado venoso superficial ¹².

Producto sanitario: Cualquier instrumento, dispositivo, equipo, programa informático, material u otro artículo, utilizado solo o en combinación, incluidos los programas informáticos destinados por su fabricante a finalidades específicas de diagnóstico y/o terapia y que intervengan en su buen funcionamiento, destinado por el fabricante a ser utilizado en seres humanos con fines de: 3.º Investigación, sustitución o modificación de la anatomía o de un proceso fisiológico ^{68,69}.

Unidimensionalidad: significa que todos los elementos de escala miden el fenómeno latente ⁹⁸.

vii. BIBLIOGRAFÍA

1. Berman A, Seyder SJ, Kozier B, Erb G. Fundamentos de Enfermería conceptos, procesos y prácticas. 8º. Vol. II. Madrid: Prentice-Hall; 2008.
2. Milutinović D, Andrijević I, Ličina M, Andrijević L. Confidence level in venipuncture and knowledge on causes of in vitro hemolysis among healthcare professionals. *Biochem Med (Zagreb)* [Internet]. 2015 [cited 2019 Mar 1];25(3):401-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2015.040>
3. Ravik M, Havnes A, Bjørk IT. Conditions Affecting the Performance of Peripheral Vein Cannulation during Hospital Placement: A Case Study. *Nurs Res Pract* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 1];2017:1-10. Available from: <https://doi.org/10.1155/2017/9748492>
4. Weston CF, Stephens MR. An audit of cardiac arrest management by extended trained ambulance crew. *Resuscitation* [Internet]. 1992 [cited 2019 Mar 1];23(3):207-16. Available from: [https://doi.org/10.1016/0300-9572\(92\)90004-V](https://doi.org/10.1016/0300-9572(92)90004-V)
5. González N. Vía venosa difícil: estrategias. *Emergencias* [Internet]. 2004 [citado 1 mar 2019];(16):201-4. Disponible en: [file:///C:/Users/User/Downloads/Emergencias-2004_16_5_201-4%20\(8\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/Emergencias-2004_16_5_201-4%20(8).pdf)
6. Stauss M, Sherman B, Pugh L, Parone D, Looby-Rodriguez K, Bell A, et al. Hemolysis of coagulation specimens: a comparative study of intravenous draw methods. *J Emerg Nurs* [Internet]. 2012 [cited 2019 Mar 2];38(1):15-21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jen.2010.08.011>
7. Balducci S, D'Errico V, Haxhi J, Sacchetti M, Orlando G, Cardelli P, et al. Effect of a Behavioral Intervention Strategy on Sustained Change in Physical Activity and Sedentary Behavior in Patients With Type 2 Diabetes: The IDES_2 Randomized Clinical Trial. *JAMA* [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 1];321(9):880-90. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2726985>
8. Sugár D, Francombe D, da Silva T, Adams R, Hutchings S. Bioequivalence of 2 Naproxen Sodium Tablet Formulations in Healthy Male and Female Volunteers. *Curr Ther Res Clin Exp* [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 2];90:33-8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2019.01.004>
9. Loro N, Sancho MJ, Sancho MT, Martínez E, Peiró A. ENFERMERÍA: CANALIZACIONES PERIFÉRICAS, ATENCIÓN, CUIDADOS, MANTENIMIENTO Y COMPLICACIONES. *Enferm Global* [Internet]. 2005 [citado 8 mar 2019];7:1-19. Disponible en: <https://revistas.um.es/eglobal/article/view/481/0>

10. Webster J, Morris H, Robinson K, Sanderson U. Development and validation of a Vein Assessment Tool (VAT). *Aust J Adv Nurs* [Internet]. 2007 [cited 2019 Mar 1];24(4):5-7. Available from: <http://www.ajan.com.au/Vol24/Vol24.4-1.pdf>
11. Fink RM, Hjort E, Wenger B, Cook PF, Cunningham M, Orf A, et al. The impact of dry versus moist heat on peripheral IV catheter insertion in a hematology-oncology outpatient population. *Oncol Nurs Forum* [Internet]. 2009 [cited 2019 Mar 1];36(4):E198-204. Available from: <https://onf.ons.org/onf/36/4/impact-dry-versus-moist-heat-peripheral-iv-catheter-insertion-hematology-oncology>
12. De la Torre-Montero JC, Montealegre-Sanz M, Faraldo-Cabana A, Oliva-Pellicer B, García-Real I, Fenwick M, et al. Venous International Assessment, VIA scale, validated classification procedure for the peripheral venous system. *J Vasc Access* [Internet]. 2014 [cited 2019 Mar 3];15(1):45-50. Available from: <https://doi.org/10.5301/jva.5000173>
13. Douglas WI, Pellett JR. Emergency vascular access in a patient with limb agenesis. *J Pediatr Surg* [Internet]. 1994 [cited 2019 Mar 3];29(4):576-7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8014822>
14. LeVasseur N, Stober C, Daigle K, Robinson A, McDiarmid S, Mazzarello S, et al. Optimizing vascular access for patients receiving intravenous systemic therapy for early-stage breast cancer-a survey of oncology nurses and physicians. *Curr Oncol* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 3];25(4):e298-304. Available from: <https://current-oncology.com/index.php/oncology/article/view/3903/2801>
15. Kam J, Taylor DM. Obesity significantly increases the difficulty of patient management in the emergency department. *Emerg Med Australas* [Internet]. 2010 [cited 2019 Mar 5];22(4):316-23. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1742-6723.2010.01307.x>
16. Smith C. Should nurses be trained to use ultrasound for intravenous access to patients with difficult veins? *Emerg Nurse* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 7];26(2):18-24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29901315>
17. Lapostolle F, Catineau J, Garrigue B, Monmartreau V, Houssaye T, Vecchi I, et al. Prospective evaluation of peripheral venous access difficulty in emergency care. *Intensive Care Med* [Internet]. 2007 [cited 2019 Mar 5];33(8):1452-7. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-007-0634-y>
18. Ministry of Health. Peripheral Intravenous Cannula (PIVC) Insertion and Post Insertion Care in Adult Patients [Internet]. Australia: New South Wales Australia; 2018 [cited 2019 Feb 28] Available from: https://www1.health.nsw.gov.au/pds/ActivePDSDocuments/GL2013_013.pdf

19. Schweitzer G, Nascimento ER, Nascimento KC, Moreira AR, Amante LN, Malfussi LB, et al. Emergency interventions for air medical services trauma victims. *Rev Bras Enferm* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 8];70(1):54-60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2016-0311>
20. Salleras-Duran L, Pumarola C. Revisión bibliográfica sobre efectividad, complicaciones, satisfacción de los usuarios y profesionales en la cateterización periférica ecoguiada en relación con la técnica tradicional. *Enferm Clin* [Internet]. 2015 [citado 7 mar 2019];26(5):1-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enfcli.2015.04.002>
21. Inan G, Inal S. The Impact of 3 Different Distraction Techniques on the Pain and Anxiety Levels of Children During Venipuncture: A Clinical Trial. *Clin J Pain* [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 8];35(2):140-7. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=30362982>
22. Péculo JA. ¿Es posible reducir el dolor en la inserción de catéter periférico intravenoso utilizando cremas anestésicas antes de la punción? *Enferm Clínica* [Internet]. 2010 [citado 21 nov 2018];20(6):374-5. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3342801>
23. De Bernardo G, Riccitelli M, Sordino D, Giordano M, Piccolo S, Buonocore G, et al. Oral 24% sucrose associated with nonnutritive sucking for pain control in healthy term newborns receiving venipuncture beyond the first week of life. *J Pain Res* [Internet]. 2019 [cited 2019 Mar 6];12:299-305. Available from: <https://doi.org/10.2147/JPR.S184504>
24. Huff L, Hamlin A, Wolski D, McClure T, Eliades AB, Weaver L, et al. Atraumatic Care: EMLA Cream and Application of Heat to Facilitate Peripheral Venous Cannulation in Children. *Issues Compr Pediatr Nurs* [Internet]. 2009 [cited 2019 Mar 9];32(2):65-76. Available from: <https://doi.org/10.1080/01460860902737418>
25. Ali S, Sivakumar M, Beran T, Scott SD, Vandermeer B, Curtis S, et al. Study protocol for a randomised controlled trial of humanoid robot-based distraction for venipuncture pain in children. *BMJ Open* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 6];8(12):1-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2018-023366>
26. García-Aracil N, Ramos-Pichardo JD, Castejón-de la Encina ME, José-Alcaide L, Juliá-Sanchís R, Sanjuan-Quiles Á. Effectiveness of non-pharmacological measures for reducing pain and fear in children during venipuncture in the emergency department: a vibrating cold devices versus distraction. *Emergencias* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 6];30(3):182-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29687673>

27. Rüsçh D, Koch T, Spies M, Eberhart L. Pain During Venous Cannulation. *Dtsch Arztebl Int* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 8];114(37):605-11. Available from: <https://www.aerzteblatt.de/int/archive/article?id=193329>
28. Kotaka T, Kimura S, Kashiwayanagi M, Iwamoto J. Camphor induces cold and warm sensations with increases in skin and muscle blood flow in human. *Biol Pharm Bull* [Internet]. 2014 [cited 2019 Mar 7];37(12):1913-8. Available from: <https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00442>
29. Barbour T, O'Keefe S, Mace SE. Patient and Health Care Provider Responses from a Prospective, Double-Blind, Randomized Controlled Trial Comparing Vapocoolant Spray versus Placebo Spray in Adults Undergoing Venipuncture in the Emergency Department. *Pain Manag Nurs* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 7];19(4):391-9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pmn.2017.09.006>
30. Hsieh C, Kong J, Kirsch I, Edwards RR, Jensen KB, Kaptchuk TJ, et al. Well-loved music robustly relieves pain: a randomized, controlled trial. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 [cited 2019 Mar 6];9(9):1-8. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107390>
31. Hudson BF, Ogden J, Whiteley MS. Randomized controlled trial to compare the effect of simple distraction interventions on pain and anxiety experienced during conscious surgery. *Eur J Pain* [Internet]. 2015 [cited 2019 Mar 6];19(10):1447-55. Available from: <https://doi.org/10.1002/ejp.675>
32. Shabandokht-Zarmi H, Bagheri-Nesami M, Shorofi SA, Mousavinasab SN. The effect of self-selected soothing music on fistula puncture-related pain in hemodialysis patients. *Complement Ther Clin Pract* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 6];29:53-7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2017.08.002>
33. Suren M, Kaya Z, Ozkan F, Erkorkmaz U, Arıcı S, Karaman S. Comparison of the use of the Valsalva maneuver and the eutectic mixture of local anesthetics (EMLA®) to relieve venipuncture pain: a randomized controlled trial. *J Anesth* [Internet]. 2013 [cited 2019 Mar 7];27(3):407-11. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00540-012-1540-1>
34. Yamagami Y, Tomita K, Tsujimoto T, Inoue T. Tourniquet application after local forearm warming to improve venodilation for peripheral intravenous cannulation in young and middle-aged adults: A single-blind prospective randomized controlled trial. *Int J Nurs Stud* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 9];72:1-7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2017.03.009>
35. Simón-López LC, Ortuño-Soriano I. Impacto de la aplicación de calor y alta presión de bloqueo tópico en la percepción venosa antebraquial. Estudio experimental no

- aleatorizado [Trabajo Fin de Máster]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología; 2016 [Inédito].
36. Ballesteros-Peña S, Vallejo-de la Hoz G, Fernández-Aedo I. Dolor asociado a las técnicas de inserción de catéteres venosos y extracción de sangre arterial en el área de urgencias. *Enferm clin* [Internet]. 2017 [citado 10 mar 2019];1-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2017.11.002>
 37. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Quality impact on diagnostic blood specimen collection using a new device to relieve venipuncture pain. *Indian J Clin Biochem* [Internet]. 2013 [cited 2019 Mar 9];28(3):235-41. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0319-y>
 38. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A, Padoan A, Chiozza ML. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev* [Internet]. 2012 [cited 2019 Mar 7];33(3):85-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22930602>
 39. Plumhoff E, Masoner D, Dale J. Preanalytic Laboratory Errors: Identification and Prevention. Mayo Medial Laboratories: Communiqué [Internet]. 2008 [cited 2019 Mar 9];33(8):1-8. Available from: <https://www.mayomedicallaboratories.com/articles/communique/2008/12.html>
 40. Gómez R, Alsina MJ, Álvarez V, Meseguer NB, Cortés M, Llopis MA, et al. Hemólisis en las muestras para diagnóstico. *Rev Lab Clin* [Internet]. 2009 [cited 2019 Mar 10];2(4):185-95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2009.08.002>
 41. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Impact of the phlebotomy training based on CLSI/NCCLS H03-a6 - procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. *Biochem Med (Zagreb)* [Internet]. 2012 [cited 2019 Mar 10];22(3):342-51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3900046/>
 42. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Picheth G, Guidi GC. Laboratory Diagnostics and Quality of Blood Collection. *J Med Biochem* [Internet]. 2015 [cited 2019 Mar 10];34(3):288-94. Available from: <https://doi.org/10.2478/jomb-2014-0043>
 43. Barnaby DP, Wollowitz A, White D, Pearlman S, Davitt M, Holihan L, et al. Generalizability and Effectiveness of Butterfly Phlebotomy in Reducing Hemolysis. *Acad Emerg Med* [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 9];23(2):204-7. Available from: <https://doi.org/10.1111/acem.12858>
 44. Phelan MP, Reineks EZ, Schold JD, Hustey FM, Chamberlin J, Procop GW. Preanalytic Factors Associated With Hemolysis in Emergency Department Blood Samples. *Arch Pathol*

- Lab Med [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 10];142(2):229-35. Available from: <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0400-OA>
45. Reed S, RemenYTE-PreScott R, Rees B. Effect of venepuncture process design on efficiency and failure rates: A simulation model study for secondary care. *Int J Nurs Stud* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 8];68:73-82. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2016.12.010>
46. Mulloy DF, Lee SM, Gregas M, Hoffman KE, Ashley SW. Effect of peripheral IV based blood collection on catheter dwell time, blood collection, and patient response. *Appl Nurs Res* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 8];40:76-9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apnr.2017.12.006>
47. Agnihotri N, Chaturvedi YM, Agnihotri A. Arterial Phlebotomy in a Whole Blood Donor and Consequent Adverse Events. *Indian J Hematol Blood Transfus* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 9];34(3):562-3. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12288-017-0905-x>
48. Oven SD, Johnson JD. Radial Nerve Injury after Venipuncture. *J Hand Microsurg* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 8];9(1):43-4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0037-1599220>. ISSN 0974-3227.
49. Voin V, Iwanaga J, Sardi JP, Fisahn C, Loukas M, Oskouian RJ, et al. Relationship of the Median and Radial Nerves at the Elbow: Application to Avoiding Injury During Venipuncture or Other Invasive Procedures of the Cubital Fossa. *Cureus* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 8];9(3):1-7. Available from: [10.7759/cureus.1094](https://doi.org/10.7759/cureus.1094)
50. Kim HJ, Park SH, Shin HY, Choi YS. Brachial Plexus Injury as a Complication after Nerve Block or Vessel Puncture. *Korean J Pain* [Internet]. 2014 [cited 2019 Mar 8];27(3):210-8. Available from: <https://doi.org/10.3344/kjp.2014.27.3.210>
51. Saldaña ÍM. Interferencia causada por hemólisis en la determinación de 25 constituyentes bioquímicos en el autoanalizador ADVIA 1800. *An Fac med* [Internet]. 2015 [cited 2019 Mar 10];76(4):377-84. Available from: <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v76i4.11407>
52. Wolf J, Haendel N, Remmler J, Kutzner CE, Kaiser T, Mothes T. Hemolysis and IgA-antibodies against tissue transglutaminase: When are antibody test results no longer reliable? *J Clin Lab Anal* [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 11];32(4):1-6. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcla.22360>
53. Zhao J, Kan Q, Wen J, Li Y, Sheng Y, Wu J, et al. Hemolysis of Blood Samples has no Significant Impact on the Results of Pharmacokinetic Data. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability* [Internet]. 2012 [cited 2019 Mar 10];4(6):82-5. Available from:

- <https://es.scribd.com/document/154028702/Hemolysis-of-Blood-Samples-Has-No-Significant-Impact-on-the-Results-of-Pharmacokinetic-Data>
54. Roche Aulario. Índices séricos: Reducción de los errores clínicos en medicina de laboratorio [Internet]. España: Roche Diagnostics, S.L.; 2008 [citado 11 mar 2019]. Disponible en: <https://aulario.roche.es/contenido-de-catalogo/indices-sericos-reduccion-de-los-errores-clinicos-en-medicina-de-laboratorio>
 55. World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2002 [cited 2019 Mar 11]. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/65957>
 56. Shah JS, Soon PS, Marsh DJ. Comparison of Methodologies to Detect Low Levels of Hemolysis in Serum for Accurate Assessment of Serum microRNAs. PLoS ONE [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 10];11(4):1-12. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153200>
 57. Appierto V, Callari M, Cavadini E, Morelli D, Daidone MG, Tiberio P. A lipemia-independent NanoDrop(®)-based score to identify hemolysis in plasma and serum samples. Bioanalysis [Internet]. 2014 [cited 2019 Mar 9];6(9):1215-26. Available from: <https://doi.org/10.4155/bio.13.344>
 58. Farrell CJ, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. Ann Clin Biochem [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 9];53(5):527-38. Available from: <https://doi.org/10.1177/0004563216643557>
 59. Katzman, B, Baumann N. Detecting and Handling Hemolysis Using Serum Indices. CLN [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 10]. [aprox. 1 pantalla] Available from: <https://www.aacc.org/publications/cln/articles/2016/march/detecting-and-handling-hemolysis-using-serum-indices>
 60. National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI). Enfermedad coronaria [Internet]. 2015 [citado 30 mar 2019]. Disponible en: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/espanol/enfermedad-coronaria#>
 61. Fox SI. Fisiología Humana. 12 ed. México: Mc Graw Hill; 2011.
 62. Silbernagl S, Despopoulos A. Fisiología: Texto y Atlas. 7ª. Madrid: Médica Panamericana; 2009.
 63. Ferreira-Valente MA, Pais-Ribeiro JL, Jensen MP. Validity of four pain intensity rating scales. Pain [Internet]. 2011 [cited 2019 Mar 27];152(10):2399-404. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=21856077>

64. Sachdeva S. Fitzpatrick skin typing: applications in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* [Internet]. 2009 [cited 2019 Mar 20];75(1):93-6. Available from: <http://www.ijdv.com/text.asp?2009/75/1/93/45238>
65. Eilers S, Bach DQ, Gaber R, Blatt H, Guevara Y, Nitsche K, et al. Accuracy of self-report in assessing Fitzpatrick skin phototypes I through VI. *JAMA Dermatol* [Internet]. 2013 [cited 2019 Mar 28];149(11):1289-94. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/fullarticle/1737180>
66. Isa ZM, Shamsuddin K, Ismail NB, Lin KG, Mahdy ZA, Hassan H, et al. The reliability of Fitzpatrick Skin Type Chart Comparing to Mexameter (Mx 18) in measuring skin color among first trimester pregnant mothers in Petaling District, Malaysia. *Malaysian Journal of Public Health Medicine* [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 28];16(3):59-65. Available from: <https://ukm.pure.elsevier.com/en/publications/the-reliability-of-fitzpatrick-skin-type-chart-comparing-to-mexam>
67. Calculadora de Tamaño Muestral GRANMO [Internet]. Barcelona: Instituto Mar de Investigaciones Médicas (IMIM); 2012 [citado 15 mar 2019]. Disponible en: <https://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/>
68. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos. *Boletín Oficial del Estado*. 2015;307:39.
69. Ministerio de Sanidad y Política Social. Real Decreto 1616/2009, de 26 de octubre, por el que se regulan los productos sanitarios implantables activos. *Boletín Oficial del Estado*. 2009;268:45.
70. Jefatura del Estado. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. *Boletín Oficial del Estado*. 1999;298:22.
71. Jefatura del Estado. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. *Boletín Oficial del Estado*. 2007;159:39.
72. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. MANUAL DE USUARIO DEL PORTAL DE ENSAYOS CLÍNICOS CON MEDICAMENTOS DE USO HUMANO (PORTAL ECM). Madrid [Internet]. 2014 [citado 30 mar 2019]. Disponible en: https://sede.aemps.gob.es/gl/usoHum/ensaClin/docs/MANUAL_PORTAL_ECM-VOL5-EC_CENTROS.pdf

73. Holloway K, Green T. Drug and Therapeutics Committees-A practical Guide [Internet]. World Health Organization and Management Sciences for Health; 2003 [cited 2019 Mar 20]. Available from: http://www.who.int/selection_medicines/en/
74. Boutron I, Moher D, Altman DG, Schulz KF, Ravaud P. Methods and processes of the CONSORT Group: example of an extension for trials assessing nonpharmacologic treatments. *Ann Intern Med* [Internet]. 2008 [cited 2019 Mar 21];148(4):60-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18283201>
75. Cobos-Carbó A. Ensayos clínicos aleatorizados (CONSORT). *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2005 [cited 2019 Mar 21];125(1):21-7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775305722053>
76. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig L, et al. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *BMJ* [Internet]. 2015 [cited 2019 Mar 21];351:1-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26511519>
77. Viera AJ, Garrett JM. Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Fam Med* [Internet]. 2005 [cited 2019 Mar 28];37(5):360-3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15883903>
78. Brunkert T, Ruppen W, Simon M, Zúñiga F. A theory-based hybrid II implementation intervention to improve pain management in Swiss nursing homes: A mixed-methods study protocol. *J Adv Nurs* [Internet]. 2019 [cited 2019 Apr 26];75(2):432-42. Available from: <https://doi.org/10.1111/jan.13817>
79. Rodríguez-Sánchez E, Tamayo-Morales O, González-Sánchez J, Mora-Simón S, Losada-Baltar A, Unzueta-Arce J, et al. Behavioural intervention to reduce resistance in those attending adult day care centres: PROCENDIAS study protocol for a randomized clinical trial. *Journal of Advanced Nursing* [Internet]. 2018 [cited 2019 Apr 27];74(6):1402-11. Available from: <https://doi.org/10.1111/jan.13537>
80. Nayak BS, Lewis LE, Margaret B, Bath YR, D'Almeida J, Phagdol T. Randomized controlled trial on effectiveness of mHealth (mobile/smartphone) based Preterm Home Care Program on developmental outcomes of preterms: Study protocol. *Journal of Advanced Nursing* [Internet]. 2019 [cited 2019 Apr 26];75(2):452-60. Available from: <https://doi.org/10.1111/jan.13879>
81. Ross JS, Mulvey GK, Hines EM, Nissen SE, Krumholz HM. Trial publication after registration in ClinicalTrials.gov: a cross-sectional analysis. *PLoS Med* [Internet]. 2009 [cited 2019 Apr 27];6(9):1-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19901971>

82. Hardt JL, Metzendorf MI, Meerpohl JJ. Surgical trials and trial registers: a cross-sectional study of randomized controlled trials published in journals requiring trial registration in the author instructions. *Trials* [Internet]. 2013 [cited 2019 Apr 27];14(407):1-9. Available from: <https://doi.org/10.1186/1745-6215-14-407>
83. Lenhardt R, Seybold T, Kimberger O, Stoiser B, Sessler DI. Local warming and insertion of peripheral venous cannulas: single blinded prospective randomised controlled trial and single blinded randomised crossover trial. *BMJ* [Internet]. 2002 [cited 2019 Feb 22];325(7361):409-10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12193353>
84. Mace SE. Prospective, randomized, double-blind controlled trial comparing vapocoolant spray vs placebo spray in adults undergoing venipuncture. *The American Journal of Emergency Medicine* [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 20];34(5):798-804. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2016.01.002>
85. Dugan L, Leech L, Speroni KG, Corriher J. Factors Affecting Hemolysis Rates in Blood Samples Drawn From Newly Placed IV Sites in the Emergency Department. *Journal of Emergency Nursing* [Internet]. 2005 [cited 2019 Apr 21];31(4):338-45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jen.2005.05.004>
86. Luksic AH, Gabaj NN, Miler M, Dukic L, Bakliza A, Simundic A-M. Visual assessment of hemolysis affects patient safety. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [Internet]. 2018 [cited 2019 Apr 21];56(4):574–81. Available from: <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0532>
87. Suter M. EDUCATIONAL COMMENTARY – IMPACT OF HEMOLYSIS ON HEMATOLOGY TESTING [Internet]. American Proficiency Institute; 2018 [cited 2019 Apr 21]. Available from: <http://www.api-pt.com/Reference/Commentary/2018Cheme.pdf>
88. Killilea DW, Rohner F, Ghosh S, Otoo GE, Smith L, Siekmann JH, et al. Identification of a Hemolysis Threshold That Increases Plasma and Serum Zinc Concentration. *J Nutr* [Internet]. 2017 [cited 2019 Apr 21];147(6):1218-25. Available from: <https://doi.org/10.3945/jn.116.247171>
89. Jefatura del Estado. Ley 24/2015, de 24 de julio, de Patentes. *Boletín Oficial del Estado*. 2015;177:80.
90. Real Academia de Ingeniería. *Diccionario Español de Ingeniería* [Internet]. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <http://www.raing.es/es>
91. Clínica Universidad de Navarra. *Diccionario Médico* [Internet]. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/bilirrubinemia>

92. Universidad de Alicante. Citometría de flujo. Servicios Técnicos de Investigación [Internet]. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <https://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-genomica-y-proteomica/citometria-de-flujo.html>
93. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española [Internet]. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <http://www.rae.es/>
94. Universidad de Burgos. Cromatografía de Gases/Líquidos acoplado a espectrometría de masas de Alta Resolución (MS-AR) [Internet]. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <https://www.ubu.es/parque-cientifico-tecnologico/servicios-cientifico-tecnicos/espectrometria/cromatografia-de-gasesliquidos-acoplado-espectrometria-de-masas-de-alta-resolucion-ms-ar>
95. Enciclopedia Salud. Definiciones [Internet]. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <https://www.enciclopediasalud.com/definiciones/eritema>
96. Doctissimo. Diccionario Médico [Internet]. Doctissimo.com. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <http://www.doctissimo.com/es/salud/diccionario-medico/lipemia>
97. MedlinePlus. Enciclopedia médica [Internet]. [citado 6 may 2019]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003206.htm>
98. Younas A, Porr C. A step-by-step approach to developing scales for survey research. Nurse Res [Internet]. 2018 [citado 6 may 2019];26(3):14-19. Disponible en: <https://journals.rcni.com/nurse-researcher/evidence-and-practice/a-stepbystep-approach-to-developing-scales-for-survey-research-nr.2018.e1585/abs>

viii. APÉNDICES

APÉNDICE A

NOTAS DE ARCHIVO DEL TRABAJO DE CAMPO
PROTOCOLO ECYPVEN-H/17 V (1.0)

ÍNDICE DE CONTENIDOS

a.	INTERVENCIONES, COMPARADOR Y CANALIZACIÓN. MONITORIZACIÓN DE LA TEMPERATURA Y HUMEDAD AMBIENTAL.....	2pg.
a.1.	INTERVENCIONES Y COMPARADOR.....	2pg.
a.2.	SUJETOS EXCLUIDOS DE LA MATRIZ DE DATOS.....	2pg.
a.3.	CANALIZACIÓN.....	2pg.
a.4.	TEMPERATURA Y HUMEDAD AMBIENTAL.....	4pg.
b.	HALLAZGOS DE DOLOR, PIEL, HEMÓLISIS Y OTROS ASPECTOS CLÍNICOS.....	6pg.
b.1.	DOLOR.....	6pg.
b.2.	PIEL.....	6pg.
b.3.	HEMÓLISIS.....	6pg.
b.4.	OTROS ASPECTOS CLÍNICOS.....	7pg.
c.	MANEJO EN LA MEDICIÓN DE HEMÓLISIS.....	8pg.
c.1.	MEDICIONES DE ABSORBANCIA MAYOR DE TRES.....	8pg.
c.2.	ANÁLISIS DE ABSORBANCIA DE HEMÓLISIS. FACTOR DE CORRECCIÓN DE LIPEMIA.....	8pg.
d.	MANEJO VISUAL DE HEMÓLISIS EN EL DISEÑO DE LAS ESCALAS.....	15pg.
d.1.	IDENTIFICACIÓN DEL COLOR EN LAS FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO DE CAMPO.....	15pg.
d.2.	IDENTIFICACIÓN DEL COLOR PARA EL DISEÑO DE LAS ESCALAS.....	17pg.
e.	VERSIONES DE LAS ESCALAS.....	20pg.
f.	SOPORTES DE LAS VERSIONES.....	24pg.
g.	LOGÍSTICA EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN.....	25pg.
g.1.	SECUENCIAS, VERSIONES, TANDAS Y OBSERVADORES.....	25pg.
g.2.	MEDICIÓN DE HEMÓLISIS EN LA FASE DE VALIDACIÓN.....	27pg.
g.3.	TAMAÑO MUESTRAL BRUTO Y NETO SEGÚN VERSIONES DE LAS ESCALAS.....	30pg.

a. INTERVENCIONES, COMPARADOR Y CANALIZACIÓN.MONITORIZACIÓN DE LA TEMPERATURA Y HUMEDAD AMBIENTAL

Se ha llevado a cabo el registro del número de *screening* y, con un barra (/), consecutivamente el número de sujeto incluido. Los sujetos que han firmado el consentimiento informado cursan con un número de *screening* de dos dígitos seguido de la letra "S" (XX-S). En los incluidos, el número asignado de dos dígitos solamente.

a.1. INTERVENCIONES Y COMPARADOR

Se produce una desviación de protocolo menor no relevante en lo que refiere a la potencia de la fuente de calor del microondas para calentar los sacos de semillas, siendo finalmente de 800W, lo cual se ajusta muy aproximadamente a lo planificado de 850 voltios (W) en el protocolo y, por lo tanto, del calor aplicado. No ha sido posible incorporar un nuevo microondas que disponga de 850W por limitaciones en la infraestructura de la Unidad de Ensayos Clínicos del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de La Princesa.

Se establece la presión de esfigmomanómetro controlada a 100 milímetros de mercurio (mmHg), siendo hemodinámicamente segura para la población aplicada.

a.2. SUJETOS EXCLUIDOS DE LA MATRIZ DE DATOS

Los sujetos 33, 43 y 56, han sido excluidos de la matriz de datos por la misma causa de desviación de protocolo: no se mantiene la presión suficiente para el estancamiento venoso con el esfigmomanómetro por falta de ajuste de la válvula.

a.3. CANALIZACIÓN

Se ha llevado a cabo la recopilación de la siguiente información, sin planificación previa en el protocolo:

- Se ha considerado conveniente el registro de la fecha, en la parte superior de cada página del cuaderno de recogida de datos (CRD), pues aporta información de los días que transcurren de periodo de lavado. De la misma manera, se ha considerado justificado en este estudio el registro de la zona anatómica de punción y el miembro superior. La zona anatómica antebraquial se ha delimitado en el antebrazo en cuatro áreas: antebrazo distal, antebrazo medial, antebrazo proximal y flexura.
- Se establece una modificación no relevante de monitorización del miembro superior óptimo (MSO), derecho (MSD) o izquierdo (MSI), y mantener el mismo brazo en el primer intento de canalización de los dos periodos. De la misma manera, se monitoriza la zona anatómica de canalización sea mantenida en ambos periodos por considerar que podrían ser factores

confundentes que sesgasen la claridad de la efectividad de las intervenciones frente al comparador.

- Se elabora la siguiente tabla 1 para la monitorización del miembro superior en la canalización entre periodos de los sujetos incluidos en la matriz de datos por cumplimiento de protocolo. En primer lugar, se registra el brazo óptimo, el cual es en el que se produce el primer intento de canalización en el primer periodo y, de la misma manera, se registra en el segundo periodo. No se registra el miembro superior ni la zona de los intentos sucesivos en los casos en los que fueron necesarios, porque se llevó a cabo con el comparador. Por lo tanto, sólo se refleja la monitorización del cumplimiento por parte del equipo investigador en las primeras aplicaciones de ambos periodos, que es cuando se aplica el método asignado.

Tabla 1. Miembro superior y zona anatómica de aplicación según los periodos en los voluntarios.

Voluntario	MSO	Zona de aplicación del método asignado1P	Zona de aplicación del método asignado2P
1	MSD	MSD (AM)	MSD (AP)
2	MSI	MSI (AM)	MSI (AP)
3	MSD	MSD (AM)	MSD (AM)
4	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
5	MSI	MSI (AM)	MSI (AD)
6	MSD	MSD (AM)	MSD (AM)
7	MSI	MSI (AM)	MSI (F)
8	MSI	MSI (AM)	MSI (AM)
9	MSI	MSI (F)	MSI (F)
10	MSI	MSI (F)	MSI (F)
11	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
12	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
13	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
14	MSI	MSI (AM)	MSI (AD)
15	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
16	MSI	MSI (AP)	MSI (AP)
17	MSD	MSD (AP)	MSD (AD)
18	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
19	MSI	MSI (F)	MSI (F)
20	MSI	MSI (F)	MSI (AP)
21	MSI	MSI (F)	MSI (F)
22	MSI	MSI (AD)	MSI (AP)
23	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
24	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
25	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
26	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
27	MSI	MSI (F)	MSI (AD)
28	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
29	MSI	MSI (AM)	MSI (AM)
30	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)

MSO: Miembro superior óptimo. MSD: Miembro superior derecho. MSI: Miembro superior izquierdo. AD: Antebrazo distal. AM: Antebrazo medial. AP: Antebrazo proximal. F: Flexura.

Continuación de la tabla 1:

Tabla 1. Miembro superior y zona anatómica de aplicación según los periodos en los voluntarios (continuación).

Voluntario	MSO	Zona de aplicación del método asignado1P	Zona de aplicación del método asignado2P
31	MSI	MSI (AD)	MSI (AM)
32	MSI	MSI (F)	MSI (AM)
34	MSI	MSI (AD)	MSI (AM)
35	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
36	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
37	MSD	MSD (AM)	MSD (AD)
38	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
39	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
40	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
41	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
42	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
44	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
45	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
46	MSI	MSI (AP)	MSI (AP)
47	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
48	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
49	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
50	MSD	MSD (AD)	MSD (AM)
51	MSD	MSD (AM)	MSD (AD)
52	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
53	MSI	MSI (AM)	MSI (F)
54	MSD	MSI (AM)	MSI (AM)
55	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)
57	MSI	MSI (F)	MSI (AD)
58	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
59	MSI	MSI (AM)	MSI (AM)
60	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
61	MSI	MSI (AD)	MSI (AD)
62	MSD	MSD (AD)	MSD (AD)

MSO: Miembro superior óptimo. MSD: Miembro superior derecho. MSI: Miembro superior izquierdo. AD: Antebrazo distal. AM: Antebrazo medial. AP: Antebrazo proximal. F: Flexura.

a.4. TEMPERATURA Y HUMEDAD AMBIENTAL

Se registra la temperatura ambiental por día de ingreso, en grados Celsius (°C), en un rango horario desde 08:00h hasta la hora en la que se ha logrado la canalización de los voluntarios, aproximadamente 08:45h. El termómetro se sitúa en un lugar céntrico de las dos zonas de la sala de fase I, sin luz artificial incidente directamente en el termómetro para evitar que sobre estime.

Tabla 2. Registro de temperatura y humedad ambiental según fecha de ingresos.

TEMPERATURA (°C)	HUMEDAD (%)	FECHA	HORA
23,5-23,8	30	10-07-17	08:00-08:30
23,4-23,8	29	11-07-17	08:00-08:40
23,5-23,7	29	12-07-17	08:00-08:35
24,6-25,3	29	13-07-17	08:00-08:30
24,5-25,0	40	14-07-17	08:00-08:50
24,0-24,7	45	16-07-17	08:00-08:40
24,5-25,0	32	17-07-17	08:00-08:20
24,6-24,7	35	18-07-17	08:00-08:30
26,7-26,8	32	19-07-17	08:00-08:20
24,6-24,7	37	20-07-17	08:00-09:00
23,8-24,6	28	21-07-17	08:00-09:00
23,1-23,5	28	23-07-17	08:00-08:34

b. HALLAZGOS DEL DOLOR, PIEL, HEMÓLISIS Y OTROS ASPECTOS CLÍNICOS

b.1. DOLOR

En lo que refiere a la evaluación del dolor en Escala Visual Analógica (EVA) numérica, en el segundo periodo, se les ha proporcionado el CRD a cada sujeto para poder recordar la puntuación que le dieron al dolor percibido en el primer periodo y poder situarlo como referencia para asignar una puntuación del dolor en el segundo periodo.

b.2. PIEL

De otra manera, la evaluación de los tipos de piel según la escala de Fitzpatrick, sólo es registrada una única vez en el primer periodo, pues se estima que de un periodo a otro no transcurre un largo periodo de tiempo para que el tipo de piel varíe y, por lo tanto, requiera de una segunda valoración.

b.3. HEMÓLISIS

Se expone una modificación no relevante de absorbancia en desoxihemoglobina, en lugar de oxihemoglobina que figura en el protocolo V (1.0), pues las muestras sanguíneas proceden del sistema venoso.

Se excluyen las siguientes muestras sanguíneas de la matriz de datos final del primer estudio experimental por las siguientes circunstancias que, potencialmente, podrían alterar la magnitud de hemólisis producida por la aplicación de las intervenciones y comparador:

- Sujeto 21. La muestra basal del primer periodo requirió de una segunda centrifugación, por caída al suelo y mezcla de los componentes sanguíneos. Se excluye y no se recoge la muestra basal correspondiente al periodo restante por no poder realizar una comparación.
- Sujeto 47. Se extrae la muestra basal con jeringa 10-15 minutos después de la canalización. Se excluye y no se recoge la muestra basal correspondiente al periodo restante por no poder realizar una comparación.
- Sujeto 40. No es posible la recogida de la muestra basal por volumen insuficiente de plasma del periodo 2. Se excluye y se elimina la muestra basal en el periodo 1 por no poder realizar una comparación.

b.4. OTROS ASPECTOS CLÍNICOS

En lo que refiere al índice de masa corporal (IMC), en el segundo periodo no se recogen los datos de peso y talla, pues se considera que el tiempo transcurrido de un periodo a otro no es esperable que curse con una modificación sustancial que tenga impacto en la percepción venosa antebraquial. La temperatura corporal registrada es timpánica, se mide una hora previa a la canalización endovenosa. La presión arterial sistólica, diastólica y frecuencia cardíaca se miden en un rango de tiempo entre 30-15 minutos, aproximadamente, previos a la canalización. En la matriz de datos, se introduce la tensión arterial media (TAM) a través de la siguiente fórmula: $TAM = [(TAS - TAD) / 3 + TAD]$. Se considera el rango de normalidad entre 70-110 mmHg (Acoltzin-Vidal, C. et al. Rev Mex Cardiol 2010; 21 (3): 99-103; Poletti, O. et al. Arch Argent Pediatr 2007; 105(4):293-8). Se considera justificado este cálculo por englobar dos variables en una, lo que facilita la posterior asociación entre variables.

La información de edad, sexo, raza e IMC se registra sólo en el primer periodo y en el segundo se refleja en los campos de texto: "No aplica" (NA).

c. MANEJO EN LA MEDICIÓN DE HEMÓLISIS

c.1. MEDICIONES DE ABSORBANCIA MAYOR DE TRES

En aquellas situaciones en las que hay cuatro mediciones y, dos de ellas son similares y las otras dos restantes también lo son, pero a su vez muy dispares entre los dos conjuntos, se realiza la media de cada binomio y se selecciona la medición restante que más similar sea a alguna de las dos medias aritméticas. Así, se genera el valor final con tres valores definitivos, según regresión a la media.

En aquellas muestras de plasma en las que se midió un total de seis mediciones de una única muestra de plasma, se seleccionan las tres mediciones más similares y se eliminan las tres más diferentes entre ellas para realizar una media aritmética.

c.2. ANÁLISIS DE ABSORBANCIA DE HEMÓLISIS. FACTOR DE CORRECCIÓN DE LIPEMIA

Se expone la siguiente modificación no relevante por actualización del ámbito en la espectrofotometría y, adicionalmente, encontrar discrepancias entre las mediciones realizadas de absorbancia a 414 nanómetros (nm) y los tonos de color detectados de cada muestra de plasma. Por lo que, el equipo investigador se pone en contacto con la autora de la siguiente publicación: Appierto, V et al. *Bioanalysis*.2014 May; 6(9):1215-26, para corroborar la aplicación de la constante de 0,16 que exponen en su trabajo, en nuestro trabajo de campo. Como resultado, se obtienen los *supplementary data*, y se aplica la siguiente fórmula para la corrección de lipemia:

$$[(A414-A385)+0.16 \times A385] \quad (\text{Appierto, V et al. } \textit{Bioanalysis}.2014 \text{ May; } 6(9):1215-26)$$

En consonancia con la mencionada publicación, el biólogo, en un examen exploratorio, observa lipemia en contenido mínimo, incluso en las muestras basales en ayunas de, al menos 6-8 horas, y propone una corrección basal de lipemia a 750 nm, pues exclusivamente interfiere la lipemia en contenido mínimo que no interfieren visualmente pero sí sobreestima la absorbancia. Asimismo, se detecta otra fórmula de corrección de lipemia cuando confluye con la longitud de onda de máxima expresión de detección de hemólisis, siendo la más extendida en la literatura A414-A385. Como consecuencia de la fórmula actual y no haber sido ampliamente utilizada por el momento, se elabora una prueba piloto a través de la selección de las muestras recogidas en el trabajo de campo del primer estudio experimental para el diseño de las versiones. Anterior a la realización de la mencionada prueba piloto, se realiza otra prueba piloto previa debido a que la estabilidad de las muestras de plasma difiere de acuerdo al tiempo transcurrido de congelación y, como el análisis en fresco no es factible, se analiza las alteraciones de valores de

absorbancia según las longitudes de onda que, posteriormente, son necesarias para aplicar los factores de corrección de lipemia mencionados.

En primer lugar, se examina la distribución paramétrica a través de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (p -valor $> 0,05$), en lugar de Kolmogorov-Smirnov, por constar de un tamaño muestral (n) = 7, en las variables de absorbancia en fresco, congelado durante 24h, durante 48h y un ciclo de congelación-descongelación a 414 nm, 385 nm y 750 nm. En segundo lugar, las muestras de plasma son de diferentes magnitudes de hemólisis en absorbancia para el tiempo de congelación de las muestras respecto a la medición de absorbancia sin congelar, en fresco, en el momento en el que se obtiene la muestra de plasma. Se llevó a cabo un análisis de ANOVA de un factor para cada longitud de onda de los valores de absorbancia a 24h, 48h y ciclo de congelación-descongelación, respecto a los valores en fresco, reflejado en la siguiente tabla 3. Como consecuencia de diferencias mínimas entre las 24h y 48h frente a la medición en fresco, y la compatibilidad en horarios laborales y factibilidad con la dinámica de trabajo entre la Unidad de Ensayos Clínicos y la del biólogo analista de absorbancia, se lleva a cabo una comparación de las medias entre las 24h y las 48h en cada longitud de onda, a través de t de Student.

Tabla 3. Comparación de absorbancia a 414 nm, 385 nm y 750 nm según tiempos de congelación.

Grupo de comparación	Longitudes de onda		
	414 nm	385 nm	750 nm
ANOVA un factor			
Fresco- 24h ¹	0,210	0,011	0,009
Fresco-48h ¹	0,242	0,027	0,003
Fresco-Ciclo ¹	0,506	0,530	0,016
t de Student			
24-48h ²	-0,007 (0,049)*	0,083 (0,0633)*	-0,76 (0,065)*

¹Suma de los cuadrados entre grupos. ²Media (desviación estándar) / * p -valor $> 0,05$.

Por lo tanto, ante las diferencias no significativas ($p = 0,810$; $0,840$, $0,183$ respectivamente en la tabla) diferencia de medias y desviación típica de los datos mínima, se justifica la pertinencia de análisis de absorbancia a las 24-48h después de congelación a -80°C y, la inconveniencia de descongelar y congelar para volver a medir una muestra más adelante. Por lo tanto, se habilita las mediciones posteriores a las 48h cuando es necesario una medición de la muestra de reserva y, ésta, no haya sido descongelada previamente.

Para poder obtener una significación estadística en un único factor de corrección aplicable a todas las muestras totales, se aleatorizan 49 muestras sanguíneas, justificado por el cálculo del tamaño muestral del protocolo V (1.0) en el apartado 14.2.2., manualmente, con la Tabla de Fisher y Yates 1936 (Armitage, P et al. 3ª ed. España: Harcourt Brace; 1997). Se expone la

trazabilidad de los números aleatorizados con la identificación de las muestras de plasma en la siguiente tabla 4.

Se escogen números de cuatro dígitos del 0001 al 1565 según las instrucciones de uso de dicha tabla; corresponde con el total de mediciones incluido los análisis de muestras en fresco y agua destilada entre las medidas para la calibración. Por lo tanto, en aquellas situaciones en las cuales el número aleatorizado coincide con la absorbancia de una muestra analizada en fresco, o agua destilada, se ha aleatorizado una segunda vez esa situación siguiendo la tabla.

Se expone la modificación no relevante de calibración del Nanodrop con agua destilada, en lugar de suero fisiológico al 0,9% por ser utilizada por otros artículos (Shash, JS et al. PLoS ONE 2016; 11(4) 1-12).

Tabla 4. Trazabilidad de número de aleatorización e identificación de las muestras.

Frecuencia	Número aleatorizado	Número Microsoft Excel®-muestra	Identificación muestra
1	0348	348-406	27. Vespertina P1
2	1206	1206-55	33. Basal P1
3	1256	1256-119	35. Vespertina P2
4	0280	280-318	22. Basal P1
5	1126	1126-123	25. Vespertina P2
6	1489	1489-38	25. Basal P2
7	0039	39-51	03. Nocturna P1
8	0526	526-609	42. Basal P1
9	1234	1234-92	29. Vespertina P2
10	0792	792-44	04. Vespertina P2
11	0798	798-51	05. Basal P2
12	1504	1504-62	58. Basal P2
13	1283	1283-4	41. Basal P2.
14	1337	1337-66	42. Vespertina P2
15	1465	1465-5	53. Basal P2.
16	1065	1065-51	18. Vespertina P2
17	0687	687-71	57. Nocturna P1
18	0782	782-33	03. Vespertina P2
19	1197	1197-43	31. Basal P2
20	1093	1093-83	21. Vespertina P2
21	1082	1082-72	20. Basal P2
22	0503	0503-581	40. Vespertina P1
23	0745	745-133	62. Vespertina P1
24	0610	0610-728	51. Basal P1
25	1389	1389-127	49. Basal P2
26	1126	1126-138	27. Vespertina P2
27	0744	0744-132	62. Vespertina P2
28	0796	0796-44	04. Nocturna P2
29	1556	1556-17	20. Vespertina P1
30	1101	1101-93	22. Vespertina P2
31	0439	0439-514	35. Basal P1
32	1097	1097-87	22. Basal P2
33	0736	0736-123	61. Nocturna P1
34	1210	1210-60	34. Basal P2
35	1485	1485-34	55. Vespertina P2
36	0750	0750-138	62. Nocturna P1
37	1415	1415-164	51. Basal P2
38	1343	1343-72	46. Basal P2
39	0310	0310-353	24. Vespertina P1
40	0771	0771-21	02. Vespertina P1
41	0354	0354-416	27. Nocturna P1
42	0427	0427-501	34. Basal P1
43	0803	0803-58	05. Vespertina P2
44	1087	1087-77	20. Vespertina P2
45	0774	0774-25	02. Nocturna P2
46	1554	1554-17	20. Vespertina 2 P2
47	1105	1105-99	23. Basal P2
48	1407	1407-155	50. Vespertina P2
49	0130	0130-160	11. Vespertina P1

P (X): Periodo (1/2). Un número seguido del momento indica el número de muestra adicional en este momento por asignación por cuotas.

De la misma manera que en el estudio piloto anterior, se examina la distribución no paramétrica a través de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($p=0,000$) por constar de $n=49$. Posteriormente, se someten las variables de los valores obtenidos de absorbancia con la aplicación de la corrección basal y los tonos de color a una correlación de Spearman (ρ) según A414 nm, A414-A385 nm, $[(A414-A385)+0.16 \times A385]$.

El valor del tono de color se mide en grados ($^{\circ}$). Adquieren un valor mayor cuanto menor absorbancia de hemólisis se detecta y, viceversa. Adicionalmente, los valores de los colores que se sitúan en (00°) corresponden, y los que exceden dicha posición (00°) al rojo y, por lo tanto, los valores regresan al origen del círculo a 360° , adquieren un rojo oscuro. En este caso, dos muestras de las 49, han excedido el color rojo en la posición 00° , por lo que el tono identificado original se ha ajustado restando su valor al 360° para mantener la propiedad de relación inversa entre las variables. Por lo tanto, un valor del tono ajustado negativo es relevante, sin embargo los valores en absorbancia negativos indican, de la misma manera que los valores 0,000, que no detecta hemólisis, por lo que los valores negativos se han traducido a 0,000.

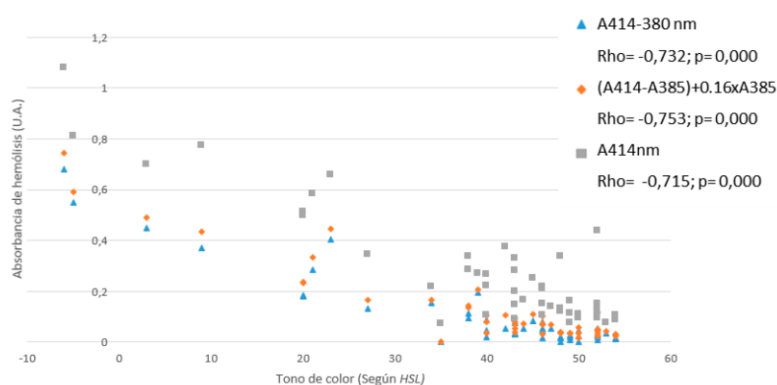


Figura 1. Correlación de valores de absorbancia y tono ajustado según factores de corrección de lipemia en la máxima expresión de la hemólisis. Nomenclatura: U.A.: Unidad adimensional. HSL: Hue, saturation and lightness. nm: nanómetros. ρ : Correlación de Spearman. Un p -valor $< 0,05$ se considera significativo.

Tal y como se observa en la figura 1, valores de los tonos ajustados con los valores de absorbancia se ajustan más cuando se les aplica el siguiente factor de corrección $(A414-A385)+0.16 \times A385$, previamente aplicado el factor de corrección basal a 750 nm, por ser el que se acerca más al valor de -1.

Posteriormente, de manera confirmatoria, se aplicó la corrección de lipemia junto con la basal en aquellas muestras que se detectaron las discrepancias ($n=42$) y se obtuvo una mayor

significación estadística y correlación entre el tono. En este caso no fue necesario realizar ningún ajuste, pues no excedieron la posición 00° , y el factor de corrección definitivo ($\rho = 0,627$, p -valor = 0,000), que sin el factor de corrección basal y a 414 nm ($\rho = 0,457$, p -valor = 0,002), tal y como se midió en el inicio del trabajo de campo.

Aun así, hubo discrepancias en algunas muestras, en éstas se descongelaron tubos de alícuota de reserva y fueron medidos, de la misma manera, en tres mediciones. De tal manera que se reemplazaron los valores de absorbancia obtenidos en la muestra de reserva en las siguientes muestras sanguíneas: 08 Basal P1; 09 Basal P1; 14 Nocturna P1; 42 Nocturna P1; 09 Vespertina P2; 14 Vespertina P2; 18 Basal P2; 35 Basal P2. La discrepancia encontrada en las primeras mediciones pudo deberse a una mezcla del contenido plasmático no efectiva. Otras muestras no pudieron ser reemplazadas, pues a pesar de que las muestras han sido corregidas en lipemia en su estado basal (750 nm) y en las longitudes de onda de máxima expresión de hemólisis, en fotografías no se ha podido corregir. Por lo que, aquellas con expresiones denotada de densidad visual que sugiere lipemia por impedir la incidencia de la luz artificial en la misma, son excluidas.

Se obtienen 302 muestras de plasma, de las cuales se eliminan 25, como se ha señalado anteriormente. Las siguientes 25 muestras fueron eliminadas, consideradas como factor confundente por seguir encontrando discrepancias entre el valor de absorbancia y el valor del tono. Se eliminaron tanto los valores de absorbancias como el tono de las fotografías. Se representan a lo largo de cada estadio [número de muestras recogidas] y, en su parte inferior, las muestras identificadas eliminadas con la correspondiente justificación.

ESTADIO 1 [199 muestras recogidas]

14 Basal P 2, 16 Basal P 2, 54 Nocturna P 1, 15 Vespertina P 2, 11 Vespertina P 1: Problemas de logística en la medición de espectrofotometría.

56 Basal P 2: Muestra congelada, sometida a *flash-freezing* por protocolo con medicamentos, lo cual no permite una detección del tono de color preciso.

ESTADIO 2 [28 muestras recogidas]

44 Basal P 1, 42 Basal P 1, 53 Basal P 2: Muestra congelada sometida a *flash-freezing* por protocolo con medicamentos.

24 Basal P 2, 41 Vespertina P 2, 10 Basal P 2: Fotografía con ruido, no permite un análisis de colorimetría preciso.

5 Nocturna P 2 (por densidad), 13 Basal P 2 (Plasma insuficiente con burbujas de aire por técnica errónea de trasvase): Muestras de plasma que no permite una detección del tono del color preciso.

16 Vespertina P 2: Discrepancia entre valores del tono de color y absorbancia.

ESTADIO 3 [27 muestras recogidas]

58 Nocturna P 1: Muestra densa y sometida a *flash-freezing* por protocolo con medicamentos.

44 Nocturna P 1, 19 Nocturna P 1, 46 Nocturna P 1, 25 Nocturna P 1: Muestra sanguínea densa, que no permite una detección del tono de color preciso.

23 Basal P 1, 42 Basal P 2: Fotografía con ruido que no permite una detección del color preciso.

ESTADIO 4 [13 muestras recogidas]

56 Vespertina P 2, 52 Basal P 1: Muestra congelada, sometida a *flash-freezing* por protocolo con medicamentos.

ESTADIO 5 [16 muestras recogidas]

56 Nocturna P 1: Discrepancia entre valores del tono de color y absorbancia.

ESTADIO 6 [6 muestras recogidas]

Ninguna.

ESTADIO 7 [13 muestras recogidas]

Ninguna.

d. MANEJO VISUAL DE HEMÓLISIS EN EL DISEÑO DE LAS ESCALAS

d.1. IDENTIFICACIÓN DEL COLOR EN LAS FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO DE CAMPO

Para fotografiar el contenido plasmático, se elabora una zona de exposición cerrada para el tubo de tipo alícuota, a través de una caja, cuyas dimensiones son las siguientes: ancho 19,4 centímetros (cm) X 24,2 cm de alto. Se reviste la parte interna con cartulina blanca, de tal manera que el fondo del plasma en el tubo se mantenga uniforme a través del mismo color “blanco” que la pegatina adherida a la parte posterior del tubo transparente de base plana.

La parte superior de la caja se encuentra seccionada en dos partes para poder introducir y extraer el tubo a fotografiar. Se mantiene cerrada en cada fotografía, aislándose así de la luz ambiental y natural.

Se elabora una gradilla, con un agujero en la mitad de su longitud, cuyo diámetro corresponde con el diámetro externo del tubo 0,9 cm. De tal manera que sostiene el tubo por la parte más superior, dejando visible la parte medial e inferior donde se identifica el contenido plasmático. La gradilla está vertebrada por un hilo de cobre adherido, en su parte superior e inferior, dos soportes de cartón blanco. El conjunto de todo ello le confiere grosor y resistencia para que perdure la posición horizontal. Todo ello se reviste con cartulina blanca del mismo tono de color que el fondo de la caja, evitando el reflejo del cobre sobre la fotografía.

Se le practican a la caja dos aperturas circunferenciales. Una de ellas corresponde con un diámetro de 1,2 cm aproximadamente, en el que se introduce una luz de tipo *light-emitting diode* (LED) de 5 W máximo y 25 miliamperios (mA) enfocando al tubo. La luz se conecta a la red eléctrica a través del ordenador, por factibilidad y evitar una disminución de la intensidad si dependiese de pilas. El segundo, de mayor diámetro, 5,70 cm aproximadamente, corresponde con la circunferencia del objetivo de la cámara y, con una perspectiva horizontal al objetivo a fotografiar de la parte ínfero-medial del tubo.

Se adhiere un soporte de poliestireno en la parte exterior a la pared frontal de la caja de 4,5 cm de altura, para sostener la cámara fotográfica, y asegurar la perspectiva horizontal en todas las fotografías.

Por lo tanto, se armonizan las características de las fotografías, controlando la luz artificial incidiendo sólo en el objetivo, la distancia del objetivo de la cámara al tubo, el color de fondo, la perspectiva de la fotografía, una luz LED de intensidad constante cronológicamente a través de corriente eléctrica conectado a un ordenador. (Figura 2).



Figura 2. Visión frontal y superior de la zona cerrada de exposición.

La identificación de cada fotografía se realiza mediante una pegatina de fondo blanco adherida a la gradilla, generalmente en el lado izquierdo. La justificación del color blanco estriba en que es el color que se usa frecuentemente para la identificación de muestras. Por lo tanto, la interferencia que pueda tener en la visualización está estandarizada y asegura una validez externa. Se identifica en la pegatina las siguientes características: el número asignado al voluntario, el tiempo de la muestra (basal, vespertina o nocturna), periodo (1 o 2) y código del ensayo clínico.

Se ha configurado la cámara fotográfica con las siguientes modalidades, para todas las fotografías: velocidad *International Organization of Standardization* 1800, sin flash. Punto f/4. Tiempo de exposición 1/1000 segundos. Distancia focal 22 milímetros (mm). Apertura máxima 4. Longitud focal de 35 mm: 33.

De acuerdo al protocolo, todos los tubos utilizados para la extracción sanguínea han sido ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) dipotásico (k2); la capacidad de estos con aditivo han sido de 10 mililitros (ml) y de 2 ml en el primer y segundo periodos, respectivamente, en los grupos de voluntarios 2, 3, 4 y 5, y de 3 ml en ambos periodos en los grupos de voluntarios 1 y 6.

El tubo del contenido plasmático (sin aditivo) que resulta de la fotografía, en fresco, se congela a -80°C , y trascurrido las 24-48h se mide la absorbancia. Posteriormente, se vuelve a congelar a -80°C hasta ser destruida según el promotor de cada ensayo, en contenedores de residuos biológicos de categoría B. No se realizan segundas mediciones de espectrofotometría en estas muestras. Se ha producido una modificación no relevante en el registro del color en el CRD de hemólisis del sujeto correspondiente, por cuestiones de logística se ha registrado en el *software*

vinculado a NanoDrop™ 2000 *Spectrophotometer* y exportados los datos al programa Microsoft Excel®.

d.2. IDENTIFICACIÓN DEL COLOR PARA EL DISEÑO DE LAS ESCALAS

De acuerdo al protocolo, todas las fotografías se han incluido en el programa Photoshop® para la identificación de los códigos *Red, Green and Blue* (RGB) y *Cyan, Magenta, Yellow and Key* (CMYK). Sin embargo, se ha producido una desviación de protocolo, pues no se ha hallado una trazabilidad bidireccional entre los códigos mencionados identificados, y cuando éstos han sido empleados para formar el mismo color. Como consecuencia, aflora una modificación no relevante a través de la identificación, adicional, del color en grados del sistema *Hue, saturation and lightness* (HSL) por detectarse en el mismo programa y obtener una trazabilidad bidireccional. Además, los códigos Pantone® no han sido utilizados, a pesar de haber sido previstos en el protocolo.

Los tonos ajustados, comentado anteriormente, realizando una resta a 360° cuando exceden la posición de inicio en 00°, solo aplica para llevar a cabo el análisis de rho, no así para la identificación del tono del color.

Se identifican los tonos de color de las bandas puntuales reflejados en la escala del panel de expertos identificada en el protocolo, para diseñar los estadios de las nuevas versiones de escalas. Se detectan los tonos de color en seis localizaciones estandarizadas en cada una de las bandas puntuales de colores de la escala en la literatura. (Figura 3).

NOTAS DE ARCHIVO DEL TRABAJO DE CAMPO

ECYPVEN-H/17 V (1.0)

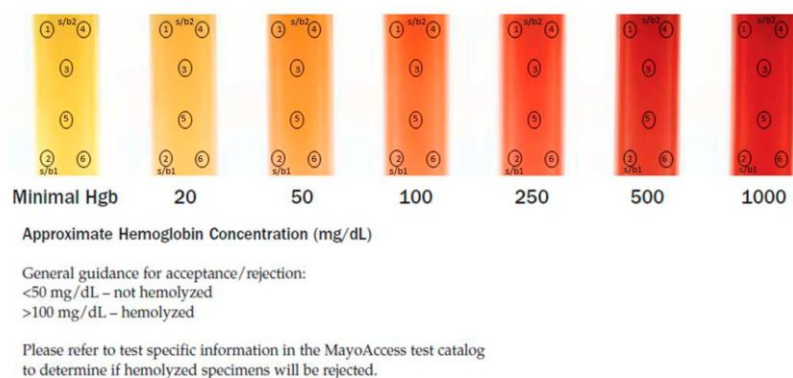


Figura 3. Localización de identificación del color, saturación y brillo de la escala de panel de expertos. Modificación de la escala original añadiendo las seis localizaciones del tono y las dos áreas del brillo y saturación (reflejados como s/b1 y s/b2). (Plumhoff E.A., et al. Mayo Medical Laboratories. Communiqué. 2008; 33(12):1-8).

Posteriormente a la identificación, se ordenan los datos detectados en orden descendente de grados del tono continuos para formar estadios. La saturación y el brillo se detecta a lo largo de los límites de la parte inferior (en el área de menor intensidad de color) a la parte superior (en el área de mayor intensidad de color) de cada banda puntual de la escala del panel de expertos. En cada estadio, se incluyen todas las muestras del trabajo de campo cuyos valores de tonos identificados se encuentren dentro de los rangos delimitados. De las muestras incluidas en cada estadio, se ordenan sus valores de absorbancia en orden ascendente. Se exponen las siguientes bandas puntuales de la escala con la identificación del tono de color en cada localización, y de los estadios formados que engloban las correspondientes muestras del trabajo de campo según sus tonos de color identificados (tabla 5):

Tabla 5. Descripción de los estadios en la escala degradada de intensidad de hemólisis.

ESCALA DE MAYO CLINICS			ESCALA DEGRADADA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS	
Minimal Hb: 52 ° - 44 °			ESTADIO 1: 55° - 44 °	
1: (52°)	4: (48°)	s/b1: 35% / 99%	193 muestras de plasma	s/b1: 35% / 99%
2: (44°)	5: (45°)			
3: (45°)	6: (48°)	s/b2: 44%/ 89%		s/b2: 44%/ 89%
20 Hb: 41° - 38 °			ESTADIO 2: 43° - 38°	
1: (40°)	4: (38°)	s/b1:47% / 90%	19 muestras de plasma	s/b1:47% / 90%
2: (41°)	5: (39°)			
3: (39°)	6: (39°)	s/b2: 50%/ 90%		s/b2: 50%/ 90%
50 Hb: 34° - 27°			ESTADIO 3: 37° - 26°	
1: (31°)	4: (26°)	s/b1:50%/ 93%	20 muestras de plasma	s/b1:50%/ 93%
2: (30°)	5: (32°)			
3: (34°)	6: (31°)	s/b2: 60%/89%		s/b2: 60%/89%
100 Hb: 23° - 16°			ESTADIO 4: 25° - 16 °	
1: (23°)	4: (22°)	s/b1:68%/ 95%	11 muestras de plasma	s/b1:68%/ 95%
2: (16°)	5: (16°)			
3: (20°)	6: (20°)	s/b2: 80%/80%		s/b2: 80%/80%
250 Hb: 15° - 07°			ESTADIO 5: 15° - 07°	
1: (15°)	4: (14°)	s/b1:71%/ 91%	15 muestras de plasma	s/b1:71%/ 91%
2: (13°)	5: (11°)			
3: (07°)	6: (13°)	s/b2: 81%/78%		s/b2: 81%/78%
500 Hb: 06° - 01 °			ESTADIO 6: 06° - 01 °	
1: (09°)	4: (02°)	s/b1:68%/ 89%	6 muestras de plasma	s/b1:68%/ 89%
2: (01°)	5: (06°)			
3: (06°)	6: (09°)	s/b2: 83%/70%		s/b2: 83%/70%
1000 Hb: 00° - 358°			ESTADIO 7: 00° - 351°	
1: (04°)	4: (03°)	s/b1:82%/ 70%	13 muestras de plasma	s/b1:82%/ 70%
2: (358°)	5: (358°)			
3: (00°)	6: (04°)	s/b2: 88%/55%		s/b2: 88%/55%

(X) Hb: (Cantidad en mg/dl) de Hemoglobina. Hb: Hemoglobina. S: saturación. B: brillo. s/b (X): valor de la saturación/valor del brillo (en el área 1 o 2).

e. VERSIONES DE LAS ESCALAS

Se elaboran varias versiones, que mantienen las mismas dimensiones en total de DINA4, en posición horizontal, para poder ser expuestas tanto en formato papel como en el formato electrónico en una pantalla de ordenador que, generalmente, están dotados los laboratorios. Así, garantizar la extrapolación de las versiones a los diferentes entornos. Por lo tanto, se reparten los tonos de colores en siete estadios en un total del ancho de 287 y 105 mm de alto, con un margen de 52,5 mm en la parte superior como en la inferior y 5 mm en la parte derecha como izquierda en una hoja DINA4. Todos los estadios ocupan un espacio idéntico de 41 mm, a repartir entre sus valores introducidos que construyen cada estadio, formando una tira de colores. De tal manera, se evitan sesgos de distorsión visual.

Por lo tanto, con la información obtenida de 277 muestras de plasma, se elaboran 3 versiones de escalas degradadas de intensidad de hemólisis.

Como consecuencia de establecer desviaciones típicas a las medias aritméticas que conforman los puntos de corte entre estadios, los valores de los límites entre los estadios son los siguientes:

- Estadio1 = 0,00- (0,121 / 0,124)
- Estadio2 = (0,121/0,124) – (0,148/ 0,180)
- Estadio3 = (0,148 / 0,180) – (0,201 / 0,207)
- Estadio4 = (0,201 / 0,207) – (0,277 / 0,287)
- Estadio5 = (0,277 / 0,287) – (0,460 / 0,520)
- Estadio6 = (0,460 / 0,520) – (0,597 / 0,681)
- Estadio7 = (0,597 / 0,681) – 2,585

A continuación, se detalla la elaboración de la tira de colores de las 3 versiones de las escalas degradadas de intensidad de hemólisis:

▪ ELABORACIÓN DE LA ESCALA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS TEÓRICA

Se introducen los tonos de mayor a menor de las muestras introducidas en los estadios y se les aplica la saturación y el brillo identificados en las bandas puntuales del panel de expertos a lo largo de los estadios de las nuevas escalas.

ESTADIO 1 [193 valores introducidos]

Tono → 55° - 44° Saturación → 35% - 44% Brillo → 99% - 89%

ESTADIO 2 [19 valores introducidos]

Tono → 43° - 38° Saturación → 47% - 50% Brillo → 90% - 90%

ESTADIO 3 [20 valores introducidos]

Tono → 37° - 26° Saturación → 50% - 60% Brillo → 93% - 89%

ESTADIO 4 [11 valores introducidos]

Tono → 25° - 16° Saturación → 68% - 80% Brillo → 95% - 80%

ESTADIO 5 [15 valores introducidos]

Tono → 15° - 07° Saturación → 71% - 81% Brillo → 91% - 78%

ESTADIO 6 [6 valores introducidos]

Tono → 06° - 01° Saturación → 68% - 83% Brillo → 80% - 70%

ESTADIO 7 [13 valores introducidos]

Tono → 00° - 351° Saturación → 82% - 88% Brillo → 70% - 55%

■ ELABORACIÓN DE LA ESCALA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS REAL

Cada estadio, consta de 99 posiciones o áreas en Photoshop® para introducir valores de los tonos de las muestras del trabajo de campo. A lo largo de los valores de los tonos en cada estadio, se introducen los valores de saturación y brillo correspondientes a los estadios, aplicados a los tonos de colores. Por lo que se calculan los siguientes espacios para introducir dichos valores en cada estadio:

- ☐ Tono = 99 posiciones del Photoshop® / total de valores del tono a introducir = el espacio (posiciones) que ocupa 1 valor del tono. 1 posición equivale a 1% del total en cada estadio. Cuando un valor ocupa las posiciones calculadas, las siguientes calculadas en bloque las ocupa el valor de color consecutivo a los obtenidos en el trabajo de campo.
- ☐ Saturación mínimo-máximo = total de valores a introducir a lo largo de los tonos / el total de valores de tonos = X valores de saturación ocupan X de espacio aplicado a cada tono, y por lo tanto cambia un valor por cada X de espacio.
- ☐ Brillo mínimo-máximo = total de valores a introducir a lo largo de los tonos / el total de valores de tonos = X valores de brillo ocupan X de espacio aplicado a cada tono, y por lo tanto cambia un valor por cada X de espacio.

ESTADIO 1 [193 valores introducidos]

- ☐ Tono: 99 posiciones/ 193 valores = 0,5. 1 valor del tono final (sólo en este caso se calcula la media aritmética de dos valores de tonos adyacentes ordenados de mayor a menor) ocupa 1 posición.
- ☐ Saturación 35-44% = 9. 9/100 valores = 0,09. Se cambia en 1 valor por cada 11 espacios de tono.
- ☐ Brillo 99-89 % = 10. 10/ 100 = 10. Se cambia 1 valor por cada 10 espacios de tono.

ESTADIO 2 [19 valores introducidos]

- ☐ Tono: 99 posiciones/ 19 valores = 1 valor del tono ocupa 5,20 posiciones.
- ☐ Saturación 47-50% = 4. 4/ 19 valores = 0,21. Se cambia 1 valor por cada 5 espacios de cada tono.
- ☐ Brillo 90-90% = 0. 0/19 valores. El brillo se mantiene en cada espacio de cada tono.

ESTADIO 3 [20 valores introducidos]

- ☐ Tono: 99 posiciones/ 20 valores = 1 valor del tono ocupa 4,95 posiciones.
- ☐ Saturación 50-60% = 11. 11/20 valores = 0,55. Se cambian 2 valores por espacio de cada tono, y en el último se cambia 1 valor.
- ☐ Brillo 93-89% = 5. 5/20 valores = 0,25. Se cambian 1 valor por espacio de cada tono.

ESTADIO 4 [11 valores introducidos]

- ☐ Tono: 99 posiciones/ 11 valores = 1 valor del tono ocupa 9 posiciones.
- ☐ Saturación 68-89% = 12. 12/11 valores = 1,09. Se cambia 1 valor por espacio de cada tono y en el último espacio se repite el valor del penúltimo.
- ☐ Brillo 95-80% = 15. 15/11 valores = 1,36. Se cambia 1 valor por espacio de cada tono y 2 valores en el último espacio.

ESTADIO 5 [15 valores introducidos]

- ☐ Tono: 99 posiciones/ 15 valores = 1 valor del tono ocupa 6,6 posiciones.
- ☐ Saturación 71-81% = 15. 12/15 valores = 0,80. Se cambia 1 valor por cada espacio de tono y el último valor se repite en el último espacio.
- ☐ Brillo 91-78% = 14. 12/15 valores = 0,80. Se cambia 1 valor por cada espacio de cada tono y el último se repite.

ESTADIO 6 [6 valores introducidos]

- ☐ Tono: 99 posiciones/ 6 valores = 1 valor del tono ocupa 16,5 posiciones.
- ☐ Saturación 68-83% = 16. 16/6 valores = 2,66. Se cambian 2 valores por cada de espacio de cada tono y 3 en el último espacio.
- ☐ Brillo 80-70% = 11. 11/6 valores = 1,83 Se cambian 2 valores por de espacio de cada tono.

ESTADIO 7 [13 valores introducidos]

- ☐ Tono: 99 posiciones/13 valores = 1 valor del tono ocupa 7,6 posiciones.
- ☐ Saturación 82-88% = 7. 7/13 valores = 0,53. Se cambian 2 valores por cada espacio de cada tono.
- ☐ Brillo 70-55% = 16. 16/13 valores = 1,23. Se cambia 1 valor por cada espacio de cada tono y en el último espacio se cambian 2 valores de brillo.

▪ **ELABORACIÓN DE LA ESCALA DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS EMPÍRICA**

El espacio de 41 mm de ancho de cada estadio es dividido en 5 partes iguales para incluir 5 imágenes en cada estadio. Se incluyen 5 muestras, por hallarse en el estadio 6 un máximo de 6 muestras, de las cuales la muestra 36 *Vespertina P 1* conserva “ruido” y se considera que incluirla puede alterar la percepción visual de las adyacentes. Por lo tanto, cada imagen ocupa 8,2 mm de ancho y 105 mm de alto. Se estandarizan las dimensiones para evitar un sesgo de distorsión visual. El criterio de selección de 5 fotografías, se basa en las que se identificó un valor del tono en grados mínimo y máximo de los límites de cada estadio y que se relacionan con los límites de los estadios en absorbancia, respectivamente. Las tres imágenes restantes de cada estadio se seleccionan según valores del tono que se sitúen en la mediana, aproximadamente, en cada estadio. Se exponen las identificaciones de las muestras acorde a la aparición en la escala de izquierda a derecha: 1, 2, 3, 4, 5. (1 y 5 = extremo inferior y superior) y (2, 3, 4 = muestra intermedia inferior, central, intermedia superior).

ESTADIO 1 [193 muestras utilizadas]

37 Nocturna P 1, 32 Nocturna P 1, 34 Basal P 2, 16 *Vespertina P 1*, 12 Basal P 1.

ESTADIO 2 [19 muestras utilizadas]

22 Basal P 1, 36 Basal P 2, 41 Basal P 1, 12 Basal P 2, 38 *Vespertina P 1*.

ESTADIO 3 [20 muestras utilizadas]

7 *Vespertina P 3*, 21 Basal P 1, 41 Basal P 2, 44 Basal P 2, 39 *Vespertina P 1*.

ESTADIO 4 [11 muestras utilizadas]

11 *Vespertina P 1*, 17 *Vespertina P 1*, 15 Nocturna P 1, 6 *Vespertina P 1*, 31 Nocturna P 1.

ESTADIO 5 [15 muestras utilizadas]

38 Nocturna P 1, 29 *Vespertina P 1*, 34 Basal P 1, 18 *Vespertina P 1*, 23 *Vespertina P 1*.

ESTADIO 6 [6 muestras utilizadas]

4 Nocturna P 2, 22 Nocturna P 1, 51 Basal P 1, 24 Basal P 1, 15 Basal P 2.

ESTADIO 7 [13 muestras utilizadas]

6 Nocturna P 1, 26 Nocturna P 1, 51 Nocturna P 1, 58 Basal P 1, 4 Nocturna P 1.

f. SOPORTES DE LAS VERSIONES

Cada una de las tres versiones de las escalas se somete a prueba de validación en soporte papel (P) y en soporte electrónico (E) a lo largo de las mismas tandas de muestras de plasma y mismos observadores en cada versión. Para equilibrar un posible efecto de arrastre visual entre el primer y segundo soporte, se crean dos secuencias que se intercambian en cada tanda de tubos de plasma evaluados P-E o E-P. Se considera que así, el efecto de arrastre que pueda haber se encuentra repartido en la misma frecuencia a lo largo de las puntuaciones de las observaciones de los dos formatos en las tandas evaluadas.

Soporte o formato papel: 210 mm de alto por 297 mm de largo DIN A4 de 90 gr en fondo blanco mate sin brillo añadido.

Soporte o formato electrónico: 210 mm de alto por 297 mm de largo DIN A4 en formato TIFF transformado a PDF. Además se genera la siguiente guía para realizar los ajustes pertinentes en el monitor en el que se visualiza la escala, para evitar distorsión de colores por ajustes personalizados. (Figura 4).

Propiedades de visualización electrónica de escala de hemólisis ECYPVEN-H/17 V (1.0)

**PROPIEDADES PARA LA VISUALIZACIÓN DE LA ESCALA DEGRADADA DE
INTENSIDAD DE HEMÓLISIS EN FORMATO ELECTRÓNICO**

Las indicaciones se sitúan: en el panel de control del ordenador> Apariencia y personalización> Pantalla> Resolución de pantalla> Configuración avanzada> Monitor (*).

En el panel de control del ordenador> Apariencia y personalización> Pantalla> Resolución de pantalla> Configuración avanzada> Administración del color> Opciones avanzadas (**)

1. Pantalla del ordenador: Modo estándar

2. (*) Configuración del monitor:

Frecuencia de actualización de la pantalla: 60 hercios.

Colores: color verdadero (32 bits)

3. (**) Administración del color:

Perfil de dispositivo: (sRGB IEC61966-2.1).

Perfil de condiciones de visión: (Perfil WCS para las condiciones de visión sRGB)

Representación del color predeterminada: (Perceptual).

Perceptual (imágenes fotográficas): Predeterminado del sistema (Fotografía).

Colorimétrico relativo (líneas): Predeterminado del sistema (Pruebas y líneas).

Colorimétrico absoluto (papel simulado): Predeterminado del sistema (Pruebas: simular el color del papel o del medio)

Gráficas de negocio (tablas y gráficos): Predeterminado del sistema (gráficos).

Página 1 de 1

Figura 4. Propiedades de visualización en soporte electrónico.

g. LOGÍSTICA EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN

g.1. SECUENCIAS, VERSIONES, TANDAS Y OBSERVADORES

En cada versión se intercambian las secuencias de formatos por cada inicio de tanda de muestras evaluada. Cuando una tanda de muestras de plasma va a ser evaluada por dos observadores, dicha tanda solo será empleada en la inspección visual de una única versión de la escala en sus dos formatos. Cuando hay disponibilidad de 4 observadores, se emparejan de 2 en 2 y se evalúan dos versiones de escalas en sus dos formatos sobre una misma tanda de muestras de plasma y, de la misma manera, con disponibilidad de 6 observadores se evalúan las tres versiones en sus dos formatos. De otra manera, cuando se obtienen 3 tandas de muestras de plasma diferentes entre ellas, con dos observadores se evalúan las tres versiones en sus dos formatos porque las muestras son diferentes entre cada tanda, por lo que no hay efecto de arrastre. De tal manera que, siempre, hay un componente (observador o tanda de muestras) que difiere para evitar el efecto de arrastre. (Tabla 6).

NOTAS DE ARCHIVO DEL TRABAJO DE CAMPO

ECYPVEN-H/17 V (1.0)

Tabla 6. Tipo de escala degradada de intensidad de hemólisis.

ESCALA TEÓRICA				ESCALA REAL				ESCALA EMPÍRICA			
Test (teórica)		Re-test (teórica)		Test (real)		Re-test (real)		Test (empírica)		Re-Test (empírica)	
Fecha	Secuencia	Fecha	Secuencia	Fecha	Secuencia	Fecha	Secuencia	Fecha	Secuencia	Fecha	Secuencia
05/02/18	P-E (1/2)	07/02/18	P-E (1/2)	12/02/18	P-E (1/3)	14/02/18	P-E (1/3)	19/02/18	P-E (1/3)	21/02/18	P-E (1/3)
	E-P (1/2)		E-P (1/2)		E-P (1/3)		E-P (1/3)		E-P (1/3)		E-P (1/3)
	P-E (3/2)		P-E (3/2)		P-E (2/3)		P-E (2/3)		P-E (2/4)		P-E (2/4)
06/02/18	E-P (1/2)	08/02/18	E-P (1/2)	13/02/18	E-P (1/3)	15/02/18	E-P (1/3)	20/02/18	E-P (1/2)	22/02/18	E-P (1/2)
	P-E (1/2)		P-E (1/2)		P-E (1/2)		P-E (1/2)		P-E (1/3)		P-E (1/3)
	E-P (4/5)		E-P (4/5)		E-P (3/4)		E-P (3/4)		E-P (2/3)		E-P (2/3)
07/02/18	P-E (1/4)	09/02/18	P-E (1/4)	26/02/18	P-E (3/2)	28/02/18	P-E (3/2)	05/03/18	P-E (1/6)	07/03/18	P-E (1/6)
	E-P (1/2)		E-P (1/2)						E-P (1/6)		E-P (1/6)
	E-P (2/3)		E-P (2/3)								
26/02/18	P-E (1/6)	28/02/18	P-E (1/6)	27/02/18	E-P (3/2)	01/03/18	E-P (3/2)	06/03/18	P-E (1/6)	08/03/18	P-E (1/6)
	E-P (1/6)		E-P (1/6)		E-P (3/2)		E-P (3/2)		E-P (1/6)		E-P (1/6)
	P-E (1/4)		P-E (1/4)		P-E (1/4)		P-E (1/4)		NA		NA
27/02/18	E-P (1/6)	29/02/18	E-P (1/6)	28/02/18	P-E (1/4)	01/03/18	P-E (1/4)	NA	NA	NA	NA
	E-P (1/6)		E-P (1/6)		P-E (1/4)		P-E (1/4)		NA		NA
	P-E (3/2)		P-E (3/2)		E-P (1/6)		E-P (1/6)		NA		NA
28/02/18	P-E (3/2)	02/03/18	P-E (3/2)	05/03/18	E-P (1/6)	07/03/18	E-P (1/6)	NA	NA	NA	NA
	P-E (3/2)		P-E (3/2)						NA		NA
	P-E (3/2)		P-E (3/2)						NA		NA
NA	NA	NA	NA	06/03/18	P-E (1/6)	08/03/18	P-E (1/6)	NA	NA	NA	NA

Nomenclatura: P: Formato papel. E: Formato electrónico. NA: No aplica. La secuencia visual es representada de la siguiente manera: 1º formato de la primera y tercera inspección visual – 2º formato de la segunda y cuarta inspección visual. La secuencia corresponde a cada tanda de muestras de plasma. Se han sombreado y en negrita las secuencias P-E. Cada observador se identifica con un número único asignado en orden cronológico de la siguiente manera: (primer observador en realizar la inspección visual / segundo observador en realizar la inspección visual). NA: No aplicaron observaciones.

Adicionalmente, se lleva a cabo una trazabilidad del número de la alícuota con una letra asignada. De un formato a otro se evalúan las muestras de menor a mayor orden numérico, y se reordenan según el orden alfabético, siempre analizando visualmente en la gradilla colocada cada tanda de muestras de izquierda a derecha. De tal manera, que, la primera inspección visual, corresponde con números y la segunda a letras. Así se evita el efecto de recuerdo de los estadios asignados a cada muestra de plasma entre formatos de una versión de escala.

No ha sido considerado en el protocolo el tiempo de inspección. Sin embargo, se ha estimado que las segundas veces de inspección se realiza más rápido y podría no dedicarse el tiempo necesario a cada muestra, por lo que se registra el tiempo, en máximo un minuto por muestra.

g.2. TRAZABILIDAD DE ETIQUETAS NUMÉRICAS Y ALFABÉTICAS EN 15 MUESTRAS (A-Ñ)

Se expone la siguiente tabla a modo de ejemplo, en la cual permanecen las letras y sólo es necesario cambiar los números, versión de la escala y la fecha. (Tabla 7).

Tabla 7. Escala degradada de intensidad de hemólisis teórica/ real/empírica.

FECHA	MOMENTO	
26/02/2018	BASALES	
	TEÓRICA	001 B
		003 D
		004 F
		005 i
		006 K
		007 J
		008 N
		009 C
		010 E
		011 A
		012 H
		013 M
		014 L
		016 G
		017 Ñ
26/02/2018	VESPERTINAS	
	TEÓRICA	018 A
		019 G
		020 i
		021 N
		022 M
		023 L
		024 E
		025 B
		026 C
		027 F
		028 D
		029 H
		030 J
26/02/2018	NOCTURNA	
	TEÓRICA	033 D
		034 F
		035 E
		036 K
		037 H
		038 G
		039 C
		040 A
		041 B
		042 i
		043 M
		044 L
		045 J
		046 N
		047 Ñ

g.3. MEDICIÓN DE HEMÓLISIS EN LA FASE DE VALIDACIÓN

Se expone una desviación de protocolo en la fase de validación al utilizar tubos EDTA k2 y tripotásico (K3) por ser los utilizados en los ensayos clínicos de bioequivalencia vigentes durante los meses de febrero y marzo de 2018. Se considera, tanto en la literatura como en el grupo investigador que no genera una alteración de resultados, e incluso aumenta la validez externa de extrapolación en dos tipos de aditivos.

El tiempo que transcurren las muestras desde que se descongelan hasta que son evaluadas en el NanoDrop™ 2000 *Spectrophotometer*, oscila en un máximo de 4 horas guardadas en nevera

a 4 °C. El tiempo se establece por aspectos de factibilidad con la organización de la Unidad de Ensayos Clínicos.

En cuanto a los valores de absorbancia, cuando una muestra cuya media aritmética ha coincidido con el valor del punto de corte, el criterio para decantarse entre los dos estadios adyacentes, es según el estadio al que correspondan los valores de absorbancia de dos mediciones de las tres seleccionadas para el cálculo de media aritmética.

Se incluye el cálculo del tamaño muestral unilateral para la fase de validación de las versiones de las escalas no previsto en el protocolo.

Se expone una modificación no relevante del análisis de la validez de criterio y constructo. El objetivo a detectar es el valor predictivo positivo (VPP) clínicamente relevante (incluyendo el estadio 1 respecto al resto de estadios), en lugar del valor predictivo positivo (VPP) sin alusión al criterio clínicamente relevante en el protocolo. Puesto que el valor numérico se mantiene, no genera impacto metodológico ni estadístico relevante. Antes de evaluar el VPP, se evalúan las concordancias y, es necesario obtener un parámetro satisfactorio ($\geq 70\%$) tanto en la validez de criterio como de la validez de constructo, en lugar de otros parámetros que figuran en el protocolo. Se justifica bajo el supuesto de que las concordancias son un parámetro enfocado a la eficacia de la escala.

Se expone una modificación no relevante del CRD para el registro del proceso de evaluación de validación. Se crea un CRD por cada versión, y se generan tantas páginas como las que se reflejan a continuación para los dos observadores. Las páginas están numeradas y se proveen sueltas para no revelar información a cada observador (figura 5):

ECYPVEN-H/17 V (1.0)

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS

g.3. TAMAÑO MUESTRAL BRUTO Y NETO SEGÚN VERSIONES DE LAS ESCALAS

A continuación, se expone el tamaño muestral que se obtuvo en la recopilación de las muestras de plasma. Como consecuencia de la técnica de colección por cuotas, se incluyeron muestras que, visualmente, se estimó que eran necesarias para alcanzar el tamaño muestral mínimo de 9 en todos los estadios. Sin embargo, como consecuencia de no ser analizadas en espectrofotometría hasta el *re-test*, no se supo hasta ese momento si la cuota para su estadio correspondiente se había cubierto o, de otra manera, las muestras recopiladas pertenecían a estadios adyacentes. Por lo tanto, se obtienen tamaños muestrales en cada estadio dispares, abordando los extremos con mayores muestras. De tal manera, una vez satisfecho el mínimo por cuotas en cada estadio, se eliminaron algunas muestras que visualmente reflejaban densidad y se sospechó de lipemia (confirmadas con espectrofotometría). Posteriormente, se aleatorizó con el programa Microsoft Excel® números de posición tantas veces como frecuencia mínima de números de muestras se consideraron necesarias excluir para balancear,

Página 30 de 32

aproximadamente, los estadios de cada versión y entre las versiones para poder realizar comparaciones entre las mismas.

A continuación, se expone el número de muestras incluidas en el trabajo de campo (bruto) y las muestras finales en la matriz de datos sin interferencias y balanceada (netos). (Tabla 8).

Tabla 8. Tamaño muestral bruto y neto según versiones de escalas.

RECUENTO	ESTADIOS							TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	
ESCALA TEÓRICA								
BRUTO	29	29	12	12	09	09	30	130
NETO	14	16	10	10	09	09	12	80
ESCALA REAL								
BRUTO	40	14	10	10	12	09	48	143
NETO	15	14	10	09	09	09	14	80
ESCALA EMPÍRICA								
BRUTO	42	09	09	12	11	09	27	119
NETO	17	09	09	09	09	09	18	80

Se establece, a través de un consenso con el equipo investigador, un tamaño muestral común de 80 muestras para cada versión de las escalas en cada soporte, por ser ligeramente superior al tamaño muestral calculado mínimo necesario de 70 muestras, y sin exceder extremadamente el tamaño muestral calculado para evitar un aumento del error tipo II.

Por último, en la tabla 9 se exponen las muestras excluidas, según las versiones, para obtener los tamaños muestrales definitivos. A pesar de que las muestras se numeraron de manera cronológica, algunas fueron codificadas con 4 dígitos por error de duplicación del último dígito, no se corrigió por identificación única e inequívoca. No se llegaron a reclutar cronológicamente tantas muestras para su identificación con 4 dígitos.

Tabla 9. Muestras eliminadas según versiones de escalas.

ESTADIO	IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS ELIMINADAS	TOTAL
ESCALA TEÓRICA		
1	L-16;L-17;L-41;L-69; 9-16; 7-17; 8-18; 10-26; 12-41; 13-42; 15-51; 18-69; 22-75; 24-83; 25-89	15
2	6-27; 8-35; 9-36; 10-37; 17-61; 20-74; 24-79; 25-80; 26-81; 21-76; 24-78; 28-87; 29-266	13
3	4-19; 6-39	2
4	5-31; 2-21	2
5	0	NA
6	0	NA
7	3-264; 4-269; 5-2706-271; 7-2769-282; 10-273; 12-285; 15-289; 18-292; 20-294; 21-298; 22-299; 23-2311; 24-2322; 25-2333; 26-290; 29-2377	18
ESCALA REAL		
1	L-151;4-110; 8-114; 9-118; 10-123; 14-128; 16-136; 25-150; 13-126; 29-157; 37-168; 15-132; 34-163; 35-165; 33-162; 38-173; 27-154; 26-153; 21-146; 28-155; 31-159; 24- 149; 40-335	23
2	0	NA
3	0	NA
4	L-167	1
5	L-91; L-295;L-296	3
6	0	NA
7	L-108;L-111;L-265;L-269;L-273;L-275;29-2311; 16-285; 19-288; 42-333; 24-2366; 1-95; 17-286; 15-284; 31-2333; 11-276; 28-299; 7-264; 6-260; 3-106; 39-2344; 10-271; 22-293; 13-282; 25-294; 8-270; 2-105; 21-290; 30-2322; 12-277; 25-2388; 18-287; 20-289	33
ESCALA EMPÍRICA		
1	L-232;34-247; 39-258; 26-233; 17-214; 6-191; 18-218; 14-202; 2-176; 1-175; 37-256; 36-255; 21-220; 16-209; 28-235; 32-239; 22-221; 23-223; 24-224; 13-200; 4-182; 9-197; 30-238; 7-193; 3-180	25
2	0	NA
3	0	NA
4	L-249;L-254;L-2455	3
5	L-2566;L-183	2
6	0	NA
7	L-184;L-188;L-329;L2566;13-2599; 11-2588; 16-315; 19-319; 8-2499	9

L- número: Lipemia que justifica la exclusión del- número de muestra. X-XXXX o XX-XXXX: número aleatorizado de posición- número de identificación de la muestra excluida. NA: No aplica.

APÉNDICE B

En Madrid a 2 de Agosto de 2017,

A la atención del CEIm del Hospital Universitario La Princesa

ASUNTO: Compromiso de anonimización de datos

Código: **ECYPVEN-H/17**

Estimados miembros del Comité Ético de Investigación Clínica con medicamentos y productos sanitarios:

Les escribo el relación al siguiente estudio: **ENSAYO CLINICO CRUZADO INCOMPLETO, DE TRES BRAZOS CONTROLADO CON PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL, UNICÉNTRICO Y CIEGO A TERCEROS PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD DEL CALOR Y/O PRESIÓN EN VENOPUNCIÓN ANTEBRAQUIAL Y EL IMPACTO EN LA INTENSIDAD DE HEMÓLISIS.** Con código: **ECYPVEN-H/17**

Con el fin de notificar el compromiso, por parte de la promotora e investigadora principal, a la anonimización de las muestras sanguíneas para la validación de la escala de hemólisis, objetivo secundario principal. Las muestras serán enumeradas con tres dígitos según orden cronológico de evaluación y no se llevará a cabo ningún registro de trazabilidad de datos de los participantes. Se considera que se corresponde con una codificación irreversible, por medios racionales, de las muestras y por lo tanto, se desestima la firma de un consentimiento informado.

Atentamente,



Fdo.: Dña. Leticia Carmen Simón López

ix. ANEXOS

ANEXO I

**COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS**

Madrid, a 23 de Junio de 2017

El **Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario de la Princesa** en su reunión del día 22-06-2017 (acta 12/17) evaluó la respuesta a las aclaraciones solicitadas del siguiente proyecto de investigación:

TÍTULO: Ensayo clínico cruzado incompleto, de tres brazos controlado con práctica clínica habitual, unicéntrico y ciego a terceros para evaluar la efectividad del calor y/o presión en venopunción antebraquial y el impacto en la intensidad de hemólisis.

TIPO: Ensayo clínico de bajo nivel de intervención con productos sanitarios (proyecto de tesis doctoral, Universidad Complutense).

CODIGO: ECYPVEN-H/17

Nº de Registro: 3113

Investigador Principal: Dña. Leticia Carmen Simón López (Enfermera UCICEC, Hospital Universitario de La Princesa). Tutores: 1. Ismael Ortuño Soriano. Hospital Universitario Clínico San Carlos. Universidad Complutense de Madrid. 2. Dolores Ochoa Mazarro. Hospital Universitario de La Princesa. Universidad Autónoma de Madrid. 3. Emilio Vargas Castrillón. Hospital Universitario Clínico San Carlos. Universidad Complutense de Madrid.

Decisión tomada: Aprobación (22-06-17)

Este Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos considera que tanto el **proyecto de investigación** como la **Hoja de información al paciente y consentimiento informado** son **ética y metodológicamente aceptables**. Asimismo, considera que los investigadores son competentes para llevar a cabo este proyecto que está enmarcado dentro de las líneas de investigación prioritarias del Hospital Universitario de La Princesa.

Fdo: **Dra. Mª de Mar Ortega Gómez**
Secretaria del C.E.I.m.

ANEXO II

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

PROTOCOLO DE ENSAYO CLÍNICO CON PRODUCTOS SANITARIOS

Título: ENSAYO CLINICO CRUZADO INCOMPLETO, DE TRES BRAZOS CONTROLADO CON PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL, UNICÉNTRICO Y CIEGO A TERCEROS PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD DEL CALOR Y/O PRESIÓN EN VENOPUNCIÓN ANTEBRAQUIAL Y EL IMPACTO EN LA INTENSIDAD DE HEMÓLISIS.

Tipo de documento: Protocolo de ensayo clínico.

Código del protocolo: ECYPVEN-H/17

Versión: 1.0 (Protocolo original)

Fase del ensayo clínico: Fase IV.

Fecha: Junio /2017

CONFIDENCIAL

La información incluida en este protocolo contiene información cuya propiedad es de los autores.
Ninguna persona está autorizada a hacer pública esta información sin el permiso por escrito del autor principal.
Este material podrá ser divulgado y utilizado por el equipo y colaboradores implicados para la realización del proyecto de investigación.

1. ÍNDICE

Lista de Figuras en el texto.....	6 pg.
Lista de Tablas en el texto.....	6 pg.
Lista de abreviaturas.....	6 pg.
Glosario de términos.....	7 pg.
1. ÍNDICE.....	2 pg.
2. RESUMEN Y ABSTRACT.....	9 pg.
3. INFORMACIÓN GENERAL.....	14pg.
3.1. Identificación del ensayo.....	14pg.
3.2. Tipo de ensayo clínico.....	14 pg.
3.3. Descripción y clasificación de los productos sanitarios.....	14pg.
3.4. Datos relativos al promotor e investigador principal.....	14pg.
3.5. Datos relativos a los investigadores colaboradores.....	14pg.
3.6. Centro de investigación.....	15pg.
3.7. Duración prevista del ensayo.....	15pg.
4. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	16pg.
4.1. Introducción.....	16pg.
4.1.1. Definición de venopunción.....	16pg.
4.1.2. Hallazgos en la actualidad.....	17pg.
4.2. Justificación.....	19pg.
5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	20pg.
5.1. Hipótesis.....	20pg.
5.2. Objetivos.....	20pg.
5.2.1. Objetivo principal.	20pg.
5.2.2. Objetivos secundarios.	20pg.
6. TIPO DE ENSAYO Y DISEÑO.....	21pg.
6.1. Fase del ensayo clínico.....	21pg.
6.2. Diseño y comparador.....	21pg.
6.3. Asignación aleatoria de las intervenciones.	22pg.
6.4. Enmascaramiento.....	23pg.
6.5. Periodo de lavado y seguimiento.....	23pg.
6.6. Justificación del diseño.....	24pg.
7. SELECCIÓN Y RETIRADA DE SUJETOS.....	25pg.

7.1. Muestreo y tipo de población.....	25pg.
7.2. Criterios de inclusión.....	25pg.
7.3. Criterios de exclusión.....	25pg.
7.4. Criterios de retirada y matriz final de datos.....	26pg.
8. DESCRIPCIÓN DE LAS INTERVENCIONES Y EL COMPARADOR.....	26pg.
8.1. Descripción de las intervenciones.....	26pg.
8.1.1. Intervención de aplicación de calor	26pg.
8.1.2. Intervención de aplicación de presión de estancamiento.....	27pg.
8.1.3. Intervención de aplicación de ambos.....	27pg.
8.2. Temporalidad inherente a las intervenciones.....	27pg.
8.3. Descripción del comparador.....	27pg.
8.4. Justificación del comparador.....	28pg.
8.5. Adherencia a las intervenciones y desviaciones de protocolo.....	28pg.
9. DESARROLLO DEL ESTUDIO	29pg.
9.1. Descripción de instalaciones Unidad Ensayos Clínicos la Princesa (UECHUP).....	29pg.
9.2. Dinámica del trabajo Unidad Ensayos Clínicos la Princesa (UECHUP).....	29pg.
9.3. Dinámica entre UECHUP-ENSAYO ECYPVEN-H/17.....	30pg.
9.4. Desarrollo del trabajo de campo del ensayo.....	30pg.
9.5. Control de calidad. Monitorización.....	31pg.
9.6. Monitorización termorregulación.....	31pg.
9.7. Hallazgos clínicos y recursos materiales implicados.....	32pg.
9.7.1. Evaluación del dolor.....	32pg.
9.7.2. Evaluación de tipos de piel.....	32pg.
9.7.3. Evaluación de hemólisis.....	33pg.
9.8. Riesgos-beneficios.....	36pg.
9.9. Finalización del trabajo de campo.....	37pg.
10. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD.....	38pg.
10.1. Alcance de la efectividad del ensayo clínico.....	38pg.
10.2. Alcance de la efectividad global.....	36pg.
10.2.1. Parámetro clínicamente relevante en venopunción.....	36pg.
10.2.2. Parámetro clínicamente relevante en dolor.....	37pg.
10.2.3. Parámetro clínicamente relevante en hemólisis.....	37pg.
11. EVALUACION DE LA SEGURIDAD.....	38pg.
11.1. Parámetros de seguridad. Imputabilidad.....	38pg.
11.1.1. Imputabilidad del dolor.	38pg.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

11.1.2. Imputabilidad del calor tópico seco. Tipos de piel.....	39pg.
11.2. Monitorización de la seguridad.....	39pg.
11.2.1. Registro de efectos secundarios.....	39pg.
11.2.2. Registro de reacciones adversas inesperadas (RAGI).....	40pg.
11.2.3. Notificación de RAGI.....	40pg.
11.2.4. Seguimiento de los eventos secundarios y/o RAGI.....	41pg.
12. ASPECTOS ÉTICOS Y ECONÓMICOS.....	41pg.
12.1. Aspectos éticos.....	41pg.
12.1.1. Marco legal del ensayo.....	41pg.
12.1.2. Notificación a agencias y comités (CEIm).....	41pg.
12.1.3. Normas generales para los investigadores colaboradores.....	42pg.
12.1.4. Hoja de información y consentimiento informado.....	42pg.
12.1.5. Confidencialidad. Acceso a la información.	42pg.
12.2. Aspectos económicos.....	43pg.
12.2.1. Seguro.....	43pg.
12.2.2. Memoria económica del ensayo.....	44pg.
13. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS.....	44pg.
13.1. Formación del equipo enfermero y colaboradores/observadores.....	44pg.
13.2. Archivo de la documentación.....	44pg.
13.3. Condiciones de publicaciones de los resultados.....	45pg.
13.4. Enmiendas al protocolo.....	45pg.
14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EPIDEMIOLÓGICO.....	45pg.
14.1. Análisis principal.....	45pg.
14.1. 1. Definición de variables.....	45pg.
14.1.2. Cálculo del tamaño muestral.....	46pg.
14.1.3. Metodología de análisis de datos.....	47pg.
14.1.3.1. Métodos estadísticos.....	47pg.
14.1.3.2. Métodos epidemiológicos.....	48pg.
14.2. Análisis principal secundario.....	49pg.
14.2.1. Definición de variables.....	49pg.
14.2.2. Potencia estadística y cálculo del tamaño muestral.....	50pg.
14.2.3. Diseño de la escala.....	50pg.
14.2.3.1. Descripción.....	50pg.
14.2.3.2. Justificación del diseño.....	54pg.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

14.2.3.3. Validación de la escala unidimensional.....	56pg.
14.2.3.4. Metodología del diseño y validación de la escala de hemólisis.....	58pg.
14.3. Análisis secundario adjunto.....	59pg.
14.4. Análisis intermedios.....	59pg.
15. APÉNDICES.....	60pg.
A. Registro de criterios de inclusión/exclusión.....	60pg.
B. Cuaderno de recogida de datos de intervenciones.....	60pg.
C. Cuaderno de recogida de datos del comparador.....	60pg.
D. Escala del dolor EVA/Numérica modificada.....	61pg.
E. Escala de Fitzpatrick modificada.....	61pg.
F. Ejemplo del interior de sobre cerrado aleatorizado.....	62pg.
G. Causalidad de efectos adversos.....	62pg.
H. Definición de gravedad de efectos adversos.....	63pg.
I. Hoja de información y consentimiento informado.....	64pg.
J. Registro de sujetos reclutados y reemplazados	70pg.
K. Memoria económica.....	71pg.
L. Formación del equipo enfermero y colaboradores/observadores.....	72pg.
M. Registro de colaboradores.....	81pg.
N. Registro de observadores y CRD de intensidad de hemólisis.....	82pg.
O. Bibliografía.....	83pg.
16. ANEXOS.....	89pg.
ANEXO I. Escala VIA.....	89pg.
ANEXO II. CLSI/NCCLS H03-A6.	89pg.
ANEXO III. Modificación de CLSI/NCCLS H03-A6.	90pg.
ANEXO IV. Declaración de Helsinki.....	90pg.
Firma de la Investigadora Principal.....	95pg.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Lista de Figuras en el texto

Figura 1. Diagrama de flujo del diseño.

Figura 2. Diseño desde la escala de referencia.

Figura 3. Diseño de la nueva escala (V1).

Figura 4. Diseño de la nueva escala (V2).

Lista de tablas en el texto

TABLA 1. Factores modificables y no modificables de venopunción

TABLA 2. Organigrama por visitas.

TABLA 3. Organigrama de evaluación hallazgos clínicos por periodos.

Abreviaturas

AEMPS. Agencia Española del Medicamentos y Productos Sanitarios.

BOE. Boletín oficial del estado.

BPC. Buenas práctica clínicas.

CCI. Coeficiente de correlación intraclase.

CE. Conformidad europea.

CEIm. Comité Ético de Investigación con medicamentos y productos sanitarios.

CLSI. Clinical and Laboratory Standtards Institute.

CMIO. Council for international organizations of medical sciences.

CMYK. Cyan, Magenta, Yellow, Black or Key.

CRD. Cuaderno de recogida de datos.

DL. Decilitro.

ECG. Electrocardiograma.

EDTA. Ácido etilendiaminotetraacético.

ETM. Error técnico de la medida.

EVA. Escala Visual Analógica.

FC. Frecuencia cardiaca.

FE. Fracción evitable.

IA. Incidencia acumulada.

ICH. Conferencia Internacional de Armonización.

ISO. International Organization for Standardization.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

IMC. Índice de masa corporal.

LPM. Latidos por minuto.

MMHG. Milímetros de mercurio.

MG. Miligramos.

NM. Nanómetros.

OMS. Organización mundial de la salud.

PNTs. Procedimientos normalizados de trabajo.

PPO. Punto de punción óptimo.

RA. Riesgo absoluto.

RAE. Real academia española.

RAGI. Reacción adversa grave e inesperada.

RGB. Red, Green and Blue.

RPM. Revoluciones por minutos.

RR. Riesgo relativo.

TA. Tensión arterial.

T. Temperatura.

UECHUP. Unidad de ensayos clínicos hospital universitario la princesa.

VIA. Venous International Assessment.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

ABSORBANCIA. *Medida de la atenuación de una radiación al atravesar una sustancia, que se expresa como el logaritmo de la relación entre la intensidad saliente y la entrante (1).*

BUENAS PRÁCTICAS CLÍNICAS. *Conjunto detallado de requisitos de calidad éticos y científicos del diseño, la dirección, el desarrollo, la monitorización, la auditoría, el registro, el análisis y el informe de los ensayos clínicos que garantizan la protección de los derechos, la seguridad y el bienestar de los sujetos de ensayo, así como la fiabilidad y solidez de los datos obtenidos en el ensayo clínico (2).*

CONCENTRACIÓN. *Magnitud que expresa la cantidad de una sustancia por unidad de volumen (1).*

DATO PERDIDO. *La pérdida o no disponibilidad de los datos requeridos correspondientes a los sujetos seleccionados (3).*

DESVIACIÓN DE PROTOCOLO. *Cambios al protocolo sin previo acuerdo (4).*

ENSAYO DE BAJO NIVEL DE INTERVENCIÓN. *Un ensayo clínico que cumpla todas las condiciones siguientes: 1.ª Los medicamentos en investigación se utilizan de conformidad con los términos de la autorización de comercialización, o 2.ª el uso de los medicamentos en investigación se basa en pruebas y está respaldado por datos científicos publicados sobre la seguridad y eficacia de*

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

dichos medicamentos en investigación en alguno de los Estados miembros implicados. 3.º Los procedimientos complementarios de diagnóstico o seguimiento entrañan un riesgo o carga adicional para la seguridad de los sujetos que es mínimo comparado con el de la práctica clínica habitual en alguno de los Estados miembros implicados (2).

ERITEMA. *Enrojecimiento de la piel o de una mucosa debida a un aumento de sangre en los pequeños capilares (5).*

EVENO SECUNDARIO. *Consecuencia indirecta y generalmente adversa del uso de un medicamento o terapia (1).*

EVENO SECUNDARIO INDESEABLE O EFECTO ADVERSO. *Cualquier respuesta nociva y no intencionada a un medicamento (2).*

HEMÓLISIS. *Liberación de la hemoglobina en el plasma por destrucción de los glóbulos rojos (1).*

ICTERICIA. *Coloración amarilla de la piel y las mucosas, debida a un incremento depigmento biliares en la sangre (1).*

LIPEMIA. *Presencia de lípidos (colesterol, triglicéridos y fosfolípidos) en la sangre (6).*

MONITOR. *Profesional capacitado con la necesaria formación y competencia clínica y/o científica, elegido por el promotor, que se encarga del seguimiento directo de la realización del ensayo. Sirve de vínculo entre el promotor y el investigador principal, cuando éstos no concurren en la misma persona. En ningún caso el monitor debe formar parte del equipo investigador (2).*

PANTONE. *Es un lenguaje estándar y sistema de comunicación de los colores sólidos basado en la igualación visual de los colores individuales premezclados (7).*

PARESTESIA. *Entumecimiento y hormigueo producido por patología o presión en el sistema nervioso o circulatorio (8).*

PLASMA. *Parte líquida de la sangre o de la linfa, que contiene en suspensión sus células componentes (1).*

PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL. *Tratamiento que suele seguirse para tratar, prevenir o diagnosticar una enfermedad o problema de salud (2).*

PRODUCTO SANITARIO ACTIVO. *Cualquier producto sanitario que dependa de la electricidad o de cualquier otra fuente de energía distinta a la generada directamente por el cuerpo humano o por la gravedad, para funcionar adecuadamente (9).*

PUNTO DE PUNCIÓN ÓPTIMO. *Aquél que presenta condiciones adecuadas en resistencia a la rotura, elasticidad a la palpación y trayecto venoso libre de lo distal a lo proximal en el caso de punción para inyección endovenosa (10).*

QUEMADURA DE PRIMER GRADO. *Aquellas que afectan sólo la capa externa de la piel. Causan dolor, enrojecimiento e hinchazón (11).*

REACCIÓN ADVERSA GRAVE. *Cualquier reacción adversa que ocasione la muerte, pueda poner en peligro la vida, exija la hospitalización del paciente o la prolongación de la hospitalización ya*

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

existente, ocasione una discapacidad o invalidez significativa o persistente, o constituya una anomalía congénita o defecto de nacimiento. A efectos de su notificación, se tratarán también como graves aquellas sospechas de reacción adversa que se consideren importantes desde el punto de vista médico, aunque no cumplan los criterios anteriores, como las que ponen en riesgo al paciente o requieren una intervención para prevenir alguno de los desenlaces anteriores y todas las sospechas de transmisión de un agente infeccioso a través de un medicamento (2).

REACCIÓN ADVERSA GRAVE E INESPERADA. *Reacción adversa grave cuya naturaleza, gravedad o desenlace no sean coherentes con la información de seguridad de referencia (2).*

2. RESUMEN Y ABSTRACT

2.1. Tipo de ensayo

Ensayo clínico de bajo nivel de intervención con productos sanitarios.

2.2. Título del ensayo

Ensayo clínico cruzado incompleto, de tres brazos controlado con práctica clínica habitual, unicéntrico y ciego a terceros para evaluar la efectividad del calor y/o presión en venopunción antebraquial y el impacto en la intensidad de hemólisis.

2.3. Identificación del protocolo

Código del protocolo: ECYPVEN-H/17

2.4. Fase del ensayo

Fase IV

2.5. Promotor e Investigador principal

Investigación independiente. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

Dña. Leticia Carmen Simón López

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006.Madrid

Teléfono: 680721340

e-mail: letsimon@ucm.es / leticia.simon@salud.madrid.org

2.6. Investigador colaborador

Dra. Dolores Ochoa Mazarro.

Investigadora principal del ensayo clínico de bioequivalencia.

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47

e-mail: mdolores.ochoa@salud.madrid.org

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

D. Sergio Luquero Bueno.

Investigador colaborador.

Biobanco. Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47

e-mail: sergio.luquero@salud.madrid.org

2.7. Centro en el que se prevé realizar el ensayo

Unidad de Ensayos Clínicos del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

2.8. Comité ético (CEIm) que evalúa

Comité Ético de Investigación Clínica con medicamentos y productos sanitarios del Hospital Universitario de la Princesa.

2.9. Monitorización

No aplica la figura del monitor. Se monitorizará la adherencia al protocolo a través de la investigadora principal del ensayo, y la investigadora principal del ensayo de bioequivalencia.

2.10. Intervenciones y comparador

Intervenciones:

1. Aplicación de calor tópico seco
2. Aplicación de alta presión de estancamiento venoso superficial
3. Aplicación de ambas. Calor y presión.

Comparador: Práctica Clínica habitual, hasta el momento.

2.11. Hipótesis y objetivo principal

Hipótesis. La frecuencia de casos en venopunción antebraquial exitosa al primer intento se ve afectada por el método aplicado.

Objetivo principal. Identificar la mayor efectividad de la aplicación del calor tópico y/o presión de estancamiento alta en venopunción antebraquial exitoso al primer intento; respecto a la práctica habitual hasta el momento.

2.12. Diseño

Estudio experimental, aleatorizado y controlado con la técnica habitual de inserción de catéter endovenoso hasta el momento. Ensayo clínico cruzado incompleto, ciego a terceros, que consta de tres brazos, en los cuales se intervienen y se le aplica el comparador.

2.13. Población y tamaño muestral

Tipo de población. Adultos sanos.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Tamaño muestral. Se requieren 54 sujetos con un nivel de confianza del 95% y una potencia estadística del 80%.

2.14. Variable primaria y secundaria principal

Variable primaria. Venopunción exitosa al primer intento.

Variable secundaria principal. Intensidad de hemolisis visual.

2.15. Evaluación de la efectividad

Efectividad óptima para la venopunción al primer intento cuando se supere un 74%, con alguna de las tres intervenciones.

2.16. Fecha prevista de realización

Se estima la ejecución para los meses de Junio y/o Julio de 2017.

2. ABSTRACT

2.1. Clinical trial type

Low level intervention health products clinical trial.

2.2. Clinical trial title

An incomplete cross-over clinical trial, with three arms interventions which its control is current clinical practice. It is unicentric to assess the effectiveness of applying dry local heat and/ or high tourniquet pressure for venipuncture and it is blinded for those who evaluate their impact on hemolysis.

2.3. Clinical trial identification

Protocol code: ECYPVEN-H/17

2.4. Clinical trial phase

Fourth phase

2.5. Sponsor and principal researcher

Non-commercial research. Dissertation. Complutense University of Madrid.

Ms. Leticia Carmen Simón López

Clinical Pharmacology Ward. La Princesa Hospital of Madrid.

Street. Diego de León 62. 28006.Madrid

Telephone number: + 34 680721340

e-mail address: letsimon@ucm.es / leticia.simon@salud.madrid.org

2.6. Co-investigator

PhD. Dolores Ochoa Mazarro.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Principal researcher of bioequivalence clinical trial

Clinical Pharmacology Ward. La Princesa Hospital of Madrid.

Street. Diego de León 62. 28006.Madrid

Telephone number: + 34 91 520 22 47

e-mail address: mdolores.choa@salud.madrid.org

Sir. Sergio Luquero Bueno.

Co-investigator

Biobank. Clinical Pharmacology Ward. La Princesa Hospital of Madrid.

Street. Diego de León 62. 28006.Madrid

Telephone number: + 34 91 520 22 47

e-mail address: sergio.luquero@salud.madrid.org

2.7. Location to address the clinical trial

Clinical trials Unit of Clinical Pharmacology Ward. La princesa Hospital of Madrid.

2.8. Ethical Committee to assess

Research Ethical Committee of La Princesa Hospital of Madrid.

2.9. Monitoring

Any person will monitor this clinical trial because the sponsor and principal researcher are the same person. Nevertheless, an adherence to this protocol will ensure by principal researcher and co-researcher.

2.10. Interventions and control

Interventions:

1. To Apply local dry heat.
2. To apply high tourniquet pressure.
3. To apply both of them. (Dry heat and high pressure)

Control: Current Clinical practice.

2.11. Hypothesis and main goal

Hypothesis. The number of attempts of success venipuncture at first time are influenced by any of the interventions applied before.

Main goal. To identify the most effective intervention of applying dry local heat and/or high tourniquet pressure in relation of number success venipuncture attempts, compared to current clinical practice.

2.12. Design

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

An experimental, randomized study which is controlled with current clinical practice to insert a peripheral vein catheter. It is an incomplete cross-over clinical trial, with three arms which are involved interventions and control therapy.

2.13. Subjects and sample size

Population. Adult healthy subjects.

Sample size. It is required to enroll 54 subjects with a 95% of level of confidence and 80% level of power.

2.14. Main and secondary variables

Main variable. Succeed peripheral vein catheter insertion at first attempt.

Secondary main variable. Visual intensity of hemolysis.

2.15. Effectiveness assessment

The optimal effectiveness is considered when venipuncture success at first attempt exceeds 74% applying any of the interventions.

2.16. Planned date to address

It is planned to carry out around June and/or July of 2017.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

3. INFORMACIÓN GENERAL**3.1. Identificación del ensayo**

Código del protocolo: ECYPVEN-H/17

3.2. Tipo de ensayo clínico

Ensayo clínico con productos sanitarios. Se considera ensayo clínico de bajo nivel de intervención fase IV por evaluar la efectividad y seguridad de un producto sanitario comercializado para un uso diferente al acreditado.

3.3. Descripción y clasificación de los productos sanitarios

Fuente de presión. Esfigmomanómetro anaeroide. Marca QUIRUMED con Conformidad Europea (CE) 0197.

Fuente de calor tópico seco. Saco térmico de semillas de algarrobo 10x10. Marca *Tusacotérmico*, sin marcado CE.

Los productos sanitarios descritos se consideran productos sanitarios activos, de clase IIa los esfigmomanómetros (12) y sin clase adjudicada para el calor tópico por no aportar marcado CE y, por lo tanto, con justificación para su investigación clínica (9).

3.4. Datos relativos al promotor e investigador principal

Investigación independiente. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

Tutor: Dr. Emilio Vargas Castrillón.

Directores de Tesis: Dr. Ismael Ortuño Soriano, Dra. Dolores Ochoa Mazarro y el Dr. Emilio Vargas Castrillón.

Dña. Leticia Carmen Simón López

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: 680721340

e-mail: letsimon@ucm.es / leticia.simon@salud.madrid.org

3.5. Datos relativos a los investigadores colaboradores

Dra. Dolores Ochoa Mazarro.

Investigadora principal del ensayo clínico de bioequivalencia.

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47

e-mail: mdolores.ocha@salud.madrid.org

D. Sergio Luquero Bueno.

Investigador colaborador.

Biobanco. Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47

e-mail: sergio.luquero@salud.madrid.org

3.6. Centro de investigación

Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de la Princesa (UECHUP). Servicio de Farmacología Clínica.

3.7. Comité Ético que evalúa

El presente ensayo clínico será evaluado, en primera instancia, por el Comité Ético de Investigación Clínica con medicamentos y productos sanitarios del Hospital Universitario de la Princesa.

3.8. Duración prevista del ensayo

La duración global del estudio dependerá del total de los sujetos reclutados en el ensayo de bioequivalencia en el que se efectúe el presente con productos sanitarios. Aproximadamente, se estima, que durará unos 30 días, desde la formación de los enfermeros hasta el cese de los posibles efectos secundarios.

4. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

4.1. INTRODUCCIÓN

4.1.1 DEFINICIÓN DE VENOPUNCIÓN

La venopunción es una técnica especialmente comprendida dentro de la competencia enfermera (13). Es una de las técnicas invasivas más comunes entre todas aquellas que se llevan a cabo en entornos hospitalarios. Diversos estudios realzan los riesgos inherentes que acarrea dicho procedimiento (14)

Según la Real Academia Española, se define venopunción, como “la punción que se hace de una vena para extraer sangre o inyectar algo” (1).

Sin embargo, según un libro propio de la competencia enfermera, considera la venopunción a “la instalación de una aguja o un catéter a la luz de una vena a través de la piel”. No comprende el concepto inyectar una infusión como parte de éste (15).

Dicho procedimiento enfermero conlleva una influencia multifactorial. Entre todos los factores predisponentes a influir en el resultado y en el proceso de la técnica hay algunos que son no modificables y, la mayoría, modificables. *Tabla 1.*

FACTORES MODIFICABLES	FACTORES NO MODIFICABLES <small>Elaboración propia</small>
Temperatura corporal-ambiental. Termorregulación	<i>Antecedentes y características demográficas</i>
Dolor y ansiedad	Edad
Hemólisis.	Sexo
Uso y tipo de guantes	Raza
Experiencia y destreza	Sobrepeso y obesidad
Zona anatómica de punción, aguja y efectos adversos	Piel, tatuajes y patologías dérmicas
Presión de bloqueo del flujo sanguíneo	Sistema venoso superficial y patologías venosas
Hidratación	Miembros superiores afectados de origen no circulatorio

Tabla 1. Factores modificables y no modificables. Elaboración propia. Modificado a partir de (13,15,16,17,19).

La venopunción es, psicológica y físicamente, una técnica traumática puesto que muchos individuos desarrollan fobia a las agujas a raíz de malas experiencias en la venopunción (16,17).

El dolor es un concepto subjetivo que se produce durante la venopunción y la ansiedad normalmente se produce antes de ésta; ambos se complementan (18). En los últimos años el dolor se ha considerado como un signo vital más y la preocupación por desarrollar medidas para disminuir el dolor en diversas técnicas también ha llegado al campo de la venopunción.

4.1.2. Hallazgos en la actualidad

Varios autores proponen el uso de la crema anestésica local compuesta por lidocaína y prilocaína, EMLA®, como medida para paliar el dolor. Conlleva la espera de una hora, aproximadamente, desde la aplicación tópica hasta que alcanza su máxima acción y está sujeto a reacciones adversas de tipo alérgicas (19). Sin embargo, un estudio reciente ha hallado que la aplicación de EMLA produce vasoconstricción (20).

Se ha descrito la reducción del dolor con técnicas no farmacológicas, tales como la maniobra de Valsalva la cual el efecto es inminente y no está sujeto a efectos adversos. Se ha demostrado que ésta es igual de efectiva que el uso de EMLA en términos de dolor, pero en términos de venopunción es más efectiva que el uso del anestésico local (21).

Otro método no farmacológico desarrollado en los últimos años es la musicoterapia. Diversos estudios han evidenciado la musicoterapia como ansiolítico, e indirectamente como analgésico, activando regiones del cerebro encargadas de la distracción y el placer. Se han observado diferencias entre la musicoterapia y el ruido externo siendo este último un estimulador de la ansiedad y la música un depresor del dolor y ansiedad. Puesto que es un componente subjetivo se debe adaptar a las consideraciones del paciente y evitar recuerdos melancólicos (22). La musicoterapia, no debiendo ser superior a 60 minutos en cada sesión, se traduce fisiológicamente en parámetros de relajación en la frecuencia cardíaca, respiratoria y presión arterial (23).

En el contexto de la cirugía sin anestesia general, se ha encontrado el abordaje del tacto, usando una pelota antiestrés, para canalizar todos los sentimientos de cada individuo aplastando dicha pelota, menos innovador pero más fácil de monitorizar (24).

Hay estudios que afirman que, más de dos terceras partes de resultados alterados obtenidos de muestras sanguíneas, tienen origen en la fase pre-analítica e incluso pre-pre-analítica (25) del modelo *brain-to-brain turnaround time loop* de Lundberg; modelo que pretende facilitar a los laboratorios el presupuesto económico relacionado con el paciente y el error analítico total (26,27). Se entiende por la fase pre-analítica desde la preparación del paciente hasta la preparación de las muestras sanguíneas para su análisis, o almacenamiento; ésta se divide en pre-pre-analítica y pre-analítica siendo la primera desde la preparación del paciente, personal y material implicado hasta la extracción sanguínea y la segunda la preparación para el

procesamiento de muestras (26,28). Diversos autores coinciden en que la fase pre-analítica es la responsable del 68,2% de los errores detectados (29). La fase preanalítica se centra en la flebotomía, en concreto en el proceso de venopunción (28-30).

Lundberg et al hace hincapié en lo siguiente *Clinicians and laboratorians should all be concerned about the effects of that laboratory test and whether the performance of it was useful for the patient or for the public's health* (26).

La ISO 15189: 2007 *standard for laboratory accreditation* como Oliviera et al. Evidencian la importancia de la calidad en el manejo y preparación del paciente en las primeras fases del modelo enunciado anteriormente. (25,28).

Efecto añadido es el tiempo que permanezca el torniquete para el estancamiento de la sangre, tipo de dispositivo de acceso vascular, y el número de intentos pueden desencadenar hemólisis y, por lo tanto, alterar las muestras sanguíneas (27,31).

Lima-Oliveira et al. propone un nuevo mecanismo, dotado de frío y vibración, aplicable al brazo durante el proceso pre-pre-analítica y pre-analítica reduciendo el dolor, ninguna de las muestras extraídas con dicho dispositivo obtuvieron signo de hemólisis; mediante inspección visual (25,32).

Las investigaciones más recientes en este ámbito apuestan por la canalización endovenosa de forma ecoguiada, para disminuir el número de intentos en su canalización. Hay evidencia, a través de estudios publicados, que aseguran que un número reducido de intentos salvaguarda en mayor probabilidad el daño del nervio braquial; efecto adverso de la venopunción. Sin embargo, la canalización ecoguiada no garantiza la disminución del daño accidental en dicho nervio. Incluso, al introducir el catéter en planos más profundos, generalmente ocasiona una serie de complicaciones, punción de un nervio o arteria, que raramente aparecen en las punciones superficiales. Además, el ecógrafo tiene un coste mayor que otras alternativas y los enfermeros tendrían que recibir un curso de formación para aprender a usar el ecógrafo correctamente; según proponen los autores de la investigación. (33,34). A pesar de las múltiples investigaciones destinadas al campo de la venopunción ecoguiada algunos autores siguen persiguiendo la punción en las venas superficiales con el uso de alternativas auxiliares como la que propone Kotaka T et al. en su investigación; con el uso de una crema tópica denominada Camphor, comparado con mentol. Observó que el aumento del flujo dependía más del tiempo del calor local que de la temperatura alta del mismo puesto que podía producir quemaduras (35).

Se ha desarrollado un estudio en el cual se han encontrado diferencias clínicamente y estadísticamente significativas en la percepción venosa antebraquial (p -valor $< 0,01$), con el empleo del calor tópico seco y presión alta con el uso del esfigmomanómetro, a través de una escala validada previamente, escala *Venous International Assessment* (VIA) (10,36).

4.2. Justificación

Dicho estudio, el cual precede al aquí presente, concluye que: la aplicación de esta intervención es efectiva para la agudización de la percepción venosa antebraquial, denota una característica de protección frente a las consecuencias que acarrea una percepción venosa difícil, reflejando así un alto impacto potencial evitable de percepciones venosas difíciles, y todo lo que ello conlleva. Por último, revela que es posible beneficiar de dicha intervención a toda la población, pero es más fructífero si se destina a sujetos con una percepción venosa comprometida, o con un bajo estadio según la escala VIA (10,36).

Así mismo, el estudio finaliza con la necesidad a la cual se pretende dar respuesta en este protocolo: esclarecer la causa del hallazgo encontrado; es decir, si el aumento de la percepción venosa antebraquial se debe a la exposición al calor seco y/o presión alta de estancamiento (37).

De la misma manera, se ha considerado que podría estar justificado la evaluación de la calidad de las muestras sanguíneas, en lo que refiere a la intensidad de hemólisis. No se ha hallado ningún estudio que pruebe, de manera empírica y válida, lo que exponen tanto Lundbeg et al. como otros autores en la fase pre-pre-analítica; número de intentos en canalización endovenosa, el dolor y aspectos del torniquete respecto a la intensidad de hemólisis (25, 26, 28,30).

Como consecuencia, también se ha considerado que podría estar justificada la necesidad de diseñar y validar una escala visual de hemólisis; detección de la intensidad de hemólisis de manera precisa y válida.

5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**5.1. Hipótesis**

La frecuencia de casos en venopunción antebraquial exitosa al primer intento se ve afectada por el método aplicado.

5.2. Objetivos**5.2.1. Objetivo principal**

Identificar la mayor efectividad de la aplicación del calor tópico y/o presión de estancamiento alta en venopunción antebraquial exitosa al primer intento; respecto a la práctica habitual hasta el momento.

5.2.2. Objetivos secundarios

- Identificar la efectividad de todos los métodos empleados en venopunción antebraquial, en lo que refiere a la venopunción al primer intento.
- Diseñar y validar una escala visual de hemolisis.
- Evaluar la intensidad de hemolisis de las muestras sanguíneas, en lo que refiere al método aplicado, respectivamente.
- Identificar la frecuencia de venopunción exitosa al primer intento, y analizar si existe asociación entre ésta y las características demográficas de los individuos.
- Analizar la correlación entre métodos empleados, intensidad de hemolisis y dolor.
- Identificar y cuantificar los eventos secundarios, así como su relación con los tipos de piel.

6. TIPO DE ENSAYO Y DISEÑO**6.1. Fase del ensayo clínico**

Se considera ensayo clínico de bajo nivel de intervención fase IV por evaluar la efectividad y seguridad de un producto sanitario comercializado para un uso diferente al acreditado.

6.2. Diseño y comparador

Estudio experimental, aleatorizado y controlado con la técnica habitual de inserción de catéter de venopunción hasta el momento. Ensayo clínico cruzado incompleto, ciego a terceros, en voluntarios sanos, que consta de tres brazos, en los cuales se intervienen y se le aplica el comparador.

Se establecen tres intervenciones y un comparador común para todas ellas.

Intervenciones:

1. Aplicación de calor tópico seco.
2. Aplicación de presión alta de estancamiento.
3. Aplicación de calor tópico seco y presión alta de estancamiento. Es decir, la combinación de las dos anteriores.

Comparador:

1. Práctica clínica habitual, hasta el momento.

Por lo tanto, todos los individuos serán sometidos a una de las tres intervenciones y al comparador, cuya secuencia se corresponde con los dos periodos establecidos por el ensayo clínico de bioequivalencia.

Por lo tanto, todos los individuos serán sometidos a una de las tres intervenciones y al comparador, cuya secuencia se corresponde con los dos periodos establecidos por el ensayo clínico de bioequivalencia.

Se comprende que es un ensayo clínico cruzado porque, cada sujeto es expuesto a una intervención, y es su propio control; se expone al comparador, cuya finalidad es disminuir la variabilidad intraindividual y acentuar la efectividad de la intervención *per se*. Es un cruzamiento incompleto porque no es posible someter a cada individuo a las tres intervenciones y deberá ser sólo una por asignación aleatoria. Dicha imposibilidad se podría respaldar por la baja frecuencia de ensayos clínicos de cuatro periodos llevados a cabo en el entorno accesible.

De esta manera, cualquiera de las intervenciones que se le asigne podrá ser comparada con el procedimiento actual para la canalización venosa antebraquial.

6.3. Asignación aleatoria de las intervenciones.

Se asignará aleatoriamente tanto la intervención como la secuencia de aplicación de la intervención con el comparador.

Se asignarán con sobres cerrados donde dentro se detallará la intervención correspondiente a aplicar, el comparador y la secuencia correspondiente. Surgiendo las siguientes opciones:

1. CA-> C. Calor tóxico primer periodo. Comparador en el segundo periodo.
2. C-> CA. Comparador en el primer periodo. Calor tóxico en el segundo periodo.
3. P-> C. Presión alta en el primer periodo. Comparador en el segundo periodo.
4. C-> P. Comparador en el primer periodo. Presión alta en el segundo periodo.
5. CA+P ->C. Combinación de calor tóxico seco y presión alta de estancamiento en el primer periodo. Comparador en el segundo periodo.
6. C-> PA+C. Comparador en el primer periodo. Combinación de calor tóxico seco y presión alta de estancamiento en el segundo periodo.

Como resultado de dichas opciones y la cobertura de la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de La Princesa es de doce individuos en cada grupo, se establecen los siguientes sobres cerrados para cada grupo:

- Cuatro contienen la intervención de calor tóxico y comparador
 - Dos serán calor tóxico primer periodo. Comparador en el segundo -> [CA->C]
 - Dos serán comparador en el primer periodo. Calor tóxico en el segundo -> [C->CA]
- Cuatro intervención de presión alta y comparador
 - Dos serán presión alta en el primer periodo. Comparador en el segundo -> [P->C]
 - Dos serán comparador en el primer periodo. Presión alta en el segundo -> [C->P]
- Cuatro combinados (calor tóxico y presión alta) y el comparador
 - Dos serán combinación en el primer periodo. Comparador en el segundo -> [CA+P->C]
 - Dos serán comparador en el primer periodo. Combinación en el segundo -> [C->CA+P]

Este esquema de doce sobres será llevado a cabo cinco veces para abordar un tamaño muestral suficiente, de sesenta sujetos, como para asumir las pérdidas estimadas y que, finalmente, se obtenga el número de sujetos, que hayan completado ambos periodos, calculado para obtener una significación estadística de los resultados. Apartado 14.1.2.

Debido a los criterios de inclusión/exclusión establecidos, y que resultarán de la primera valoración VIA (36), *APÉNDICE A*, se intentará obtener un número equivalente de individuos en cada brazo.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

En cada sobre se incluirá, de manera predeterminada y sin conocimiento con anterioridad, el orden cronológico de aplicación de la intervención-comparador. APÉNDICE B.

Se aleatorizará una sola vez, en el primer periodo. En el segundo periodo se aplicará la secuencia restante. Figura 1.

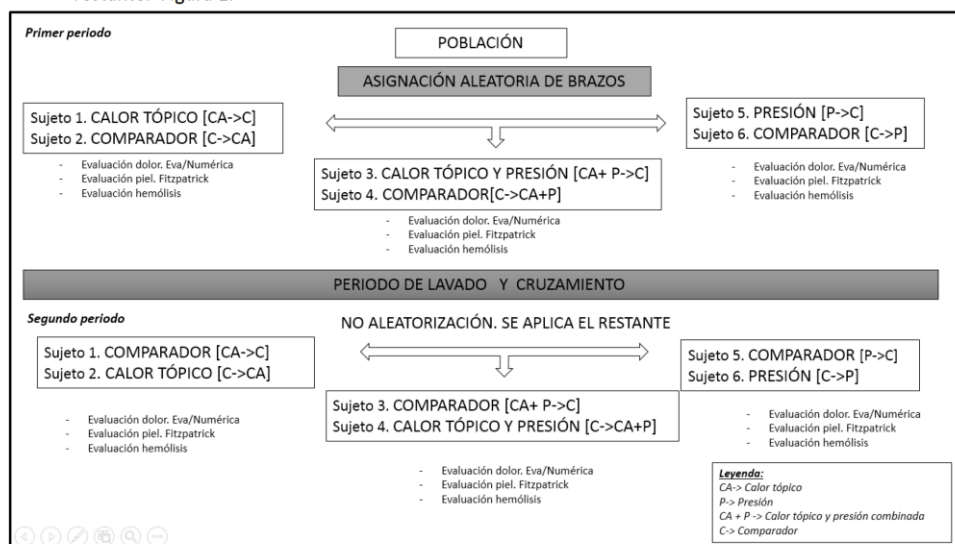


Figura 1. Diagrama de flujo del diseño. Elaboración propia.

6.4. Enmascaramiento

El presente estudio se considera ciego a terceros; no se contempla un cegamiento simple por problemas de logística. Tanto la investigadora principal, como los enfermeros y sujetos participantes en el estudio conocen el método que se les va a aplicar. Sin embargo, si se considera ciego a terceros, puesto que la valoración de hemólisis lo realiza personal de equipo que desconoce el método usado en la canalización venosa antebraquial para cada muestra que analiza.

6.5. Período de lavado y seguimiento

Se prevé un periodo de lavado entre la intervención y el comparador asignado aleatoriamente de una semana aproximadamente. Dependerá del periodo de lavado del ensayo clínico de bioequivalencia. Como consecuencia, se considera tiempo suficiente para eliminar el posible efecto residual del calor tónico y la presión alta del esfigmomanómetro. Figura 1.

En la bibliografía no se ha encontrado indicación del tiempo del reflujo anterógrado en los miembros superiores, por lo que se ha adaptado a lo indicado para los miembros inferiores en

el reflujo retrógrado, el cual es 0,5 segundos sin la acción muscular (38). Se ha estimado 0,2 segundos aproximadamente dado que se trata de reflujo anterógrado con acción muscular.

En primera instancia, no se prevé periodo de seguimiento, a menos que se produzca un efecto secundario, el cual se seguirá hasta su cese.

6.6. Justificación del diseño

Se considera que la metodología reflejada en el presente estudio podría estar justificada bajo el siguiente supuesto *los ensayos clínicos aleatorizados (ECA) bien diseñados y correctamente ejecutados proporcionan la mejor evidencia sobre el efecto de las intervenciones sanitarias;* según la guía CONSORT (39,40).

Se han abordado todos los “puntos críticos” que refleja dicha guía a lo largo del presente trabajo; con la finalidad de asegurar que la información proporcionada sea suficiente y exacta (39,40).

Así mismo, el estudio se encuentra respaldado por la extensión de la guía que recoge información adaptada a ensayos clínicos con intervenciones no farmacológicas; como es este caso (40,41). Para abordar la disparidad de experiencia y destreza de los enfermeros lo respalda la asignación aleatoria tanto de las intervenciones y la elegibilidad indistinta de los enfermeros que participen en el presente ensayo clínico (41).

Se justifica el estudio abierto por la dificultad de enmascarar intervenciones. En la extensión *CONSORT for Trials Assessing Nonpharmacologic Treatments* realza el cambio en su ítem 11, enmascaramiento, en lo que refiere a la semántica. De tal manera que introduce la posibilidad de dirigir el enmascaramiento hacia aquellos colaboradores que aplican las intervenciones, en lugar de enmascarar las intervenciones hacia los sujetos y en la evaluación de resultados (41).

7. SELECCIÓN Y RETIRADA DE SUJETOS

7.1. Muestreo y tipo de población

Se considera un estudio de muestra no probabilística, por conveniencia de voluntarios sanos. Se comunica la existencia del ensayo de bioequivalencia y son los voluntarios los que acuden a inscribir su participación por razones particulares, son grupos de fácil acceso y de características específicas. Además, todos ellos mantienen un ayuno de, al menos, 6-8 horas previas a la canalización endovenosa periférica.

Todos los individuos reclutados para realizar el trabajo de campo deben haber cumplido con todos los criterios de inclusión, y ninguno de exclusión.

7.2. Criterios de inclusión.

Se incluirá a los sujetos que cumplan los siguientes requisitos:

- Edad de 18 a 55 años (42).
- Hayan firmado el consentimiento informado del presente ensayo.
- Participar en un ensayo clínico de bioequivalencia de la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de La Princesa.
- No alcanzar estadio I en la escala VIA, en la primera valoración.
- Ingesta de líquidos igual o menor a 500 ml, en las últimas 6-8 horas previas a la canalización venosa (15,38).

Se podría justificar el criterio de exclusión de escala VIA de estadio I como consecuencia de las conclusiones del estudio de investigación que precede al presente (37).

7.3. Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión por defecto:

- Portador de alguna enfermedad reconocida o diagnosticada.
- Alcanzar estadio I en la escala VIA, en la primera valoración.
- Ingesta superior a los 500 ml de líquidos en últimas 6-8 horas previas a la canalización venosa (15,38).
- No demostrar capacidad para comprender *la hoja de información*, y adherirse a las instrucciones descritas.

7.4. Criterio de retirada y matriz final de datos

Se incluirán los datos en la matriz final para el análisis a aquellos que hayan cumplido las directrices a lo largo del trabajo de campo; en consonancia a criterios de exclusión. Se consideran los siguientes datos perdidos:

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

- No posibilidad de canalización endovenosa en el primer periodo del estudio de bioequivalencia.
- Sujeto que no acude al segundo periodo.

No se considera dato perdido cuando en el segundo periodo no sea posible una canalización endovenosa pero se haya intentado al menos una vez. Pues es posible recoger todos los datos que precisa este estudio para en análisis de la variable primaria; que es para la cual se precisan los individuos calculados en el tamaño muestral.

Es decir, se incluirán solo los datos no perdidos ni desviaciones del protocolo; análisis por cumplimiento de protocolo.

8. DESCRIPCIÓN DE LAS INTERVENCIONES Y EL COMPARADOR

8.1. Descripción de las intervenciones

8.1.1. Intervención aplicación de calor tópico seco:

La aplicación se realizará con dos sacos, de semillas de algarrobo, conjuntas previamente calentadas en el microondas durante 0,30 segundos a 850 W de potencia; 0-1 minuto según instrucciones de uso. Ambos sacos son depositados de forma alineada y consecutiva en el área anatómico candidato a la venopunción, generalmente antebraquial. Se ubicará el primer saco en la parte más caudal, generalmente muñeca, y el segundo en una zona más craneal. Así se pretende potenciar el flujo venoso de distal a proximal. El calor seco es efectivo a una temperatura de 94 grados Fahrenheit; se ha realizado una aproximación a grados centígrados, 34,47 °C llevado a la práctica se podría establecer como 34-35°C (38,43).

La aplicación de los sacos debe efectuarse durante 7 minutos en la zona aproximada a puncionar antes de aplicar presión para el estancamiento de la sangre y así recolectar la mayor cantidad de sangre venosa en el área de interés (43).

Los sacos no figuran ningún CE cuya marca comercial es Tusacotermico® adquiridos a través de su página web online. Se utiliza este método por adaptarse perfectamente a la anatomía del área corporal en el que se superpone, ser de bajo coste, ocho euros aproximadamente, y recubierto por tela de algodón el cual es un material conductor térmico.

En el brazo de intervención de calor tópico seco, se aplicará presión de estancamiento con el torniquete elástico, cuya presión no es posible monitorizar.

8.1.2. Intervención de aplicación de alta presión de bloqueo:

Se va a llevar a cabo con el uso del esfigmomanómetro anaeroide manual. Marca QUIRUMED con marcado CE 0197. Se aplicará una presión menor que la presión arterial sistólica, medida en milímetros de mercurio (mmHg), o lo que es lo mismo siendo aún palpable el pulso radial de cada paciente (16). Se debe situar 10 cm por encima del nivel a puncionar si es en la zona cubital; o en la zona más inferior del brazo sin sobrepasar el codo en caso de puncionar en el dorso de la mano (15).

Se ha elegido este recurso material por el fácil acceso del mismo en cualquier entorno de trabajo enfermero y su adquisición no tendría un coste adicional; incluso se estaría rentabilizando su uso. Además, no acarrea ninguna enseñanza previa a su uso pues los enfermeros están familiarizados.

8.1.3. Intervención de aplicación de ambos:

Primero se aplicará el calor, según se ha reseñado más arriba. Pasados los siete minutos, se aplicará la presión con el esfigmomanómetro durante todo el proceso de venopunción hasta conseguir canalizar la vena que se ha marcado como objetivo *a priori*. Como resultado, el efecto es simultáneo.

8.2. **Temporalidad inherente a las intervenciones**

Se ha registrado que el tercer método descrito dura quince minutos aproximadamente (37). Se considera que el resto conllevan una duración menor.

8.3. **Descripción del comparador**

Práctica habitual, hasta el momento: Se han seguido los pasos que establece la guía de venopunción estandarizada y aprobada CLSI H03-A6 (GP41-A6) (44). Se ha tenido en cuenta, la modificación de dicha guía por Lima-Oliveira *et al.* en el orden de pasos a seguir para ponerse los guantes; de tal manera que se adapta a la práctica clínica habitual en España (27). *ANEXO II, ANEXO III.*

Por lo tanto, se seguirán los pasos de ésta última, CLSI H03-A6 (44), permitiendo que se pongan los guantes en el orden que consideren los enfermeros. La condición irrevocable, será cumplir dicho paso, así como que se cumpla antes del paso correspondiente a la venopunción en sí misma.

El método habitual no conlleva aplicación de calor tópico previamente, y el torniquete corresponde al de látex.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

En este protocolo la venopunción hará alusión a la inserción de catéter periférico endovenoso superficial, desde la parte caudal a la craneal del antebrazo. Se considerará *éxito*, tras la inserción del catéter, se produzca un reflujo venoso y sea posible la extracción de una muestra sanguínea basal.

8.4. Justificación del comparador

El comparador corresponde a la práctica clínica habitual hasta el momento, surge de la necesidad de conocer nuevas alternativas al método de trabajo armonizado actualmente en nuestro entorno.

En concreto, se ha considerado tanto la guía aprobada y estandarizada (44) como una guía no estandarizada que, basándose en la primera, sufre pequeñas modificaciones (27). Mientras la guía estandarizada procede de los Estados Unidos, por lo que la dinámica de trabajo es diferente, la no estandarizada surge en la Universidad Complutense de Madrid, a nivel nacional; aborda la adaptación necesaria a la dinámica de trabajo español (27,44).

8.5. Adherencia a las intervenciones y desviaciones de protocolo

La adherencia al protocolo se asegurará con los siguientes recursos:

- El tiempo y la potencia de la fuente de calor emitida a los sacos de algarrobo se realizarán mediante un microondas, cuya potencia y tiempo serán prefijadas.
- El tiempo de aplicación de los sacos de semillas, siete minutos, será controlado a través de un cronómetro cuenta atrás portátil. Se dispondrá de un temporizador cuenta atrás y ascendente con marcado CE, para cada sujeto. El enfermero programará el dispositivo para que, transcurridos siete minutos desde la aplicación de los sacos, se emita una alarma para retirarlos. Así mismo, cuando la alarma suena comienza una cuenta ascendente y se podrá conocer el tiempo transcurrido en exceso; en cuyo caso.

Se considerarán desviaciones del protocolo y datos recuperados en los siguientes casos:

Aplicación del calor tópico seco

1. Si no se calientan los dos sacos de semillas lo suficiente -> Se procederá a calentar otros dos de nuevo. Siempre habrá dos sacos más de reserva; pues recalentar los sacos no se recomienda porque se desconoce la temperatura que podrían llegar a alcanzar y podría generar "ruido" para valorar la efectividad de la intervención.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

2. Si no se alcanzan los 7 minutos -> Desviación de protocolo
3. Si se dejan aplicados los sacos excediendo 7 minutos -> Desviación de protocolo
4. Si se desprendiese un saco de semillas, o ambos, y se recupera a su posición anterior en menos de 1 minuto (Tiempo de flexibilidad). Sin necesidad de dejar actuar un minuto más -> Dato recuperado.
5. Si se desprendiese un saco de semillas, o ambos, y no se recupera a su posición anterior en menos de 1 minuto (Tiempo de flexibilidad) -> Desviación de protocolo
6. Si se desprendiesen los dos sacos de semillas, sin posibilidad de estimar el tiempo que ha transcurrido aproximadamente -> Se recupera y se vuelve a iniciar el proceso.

Se dispondrá de otro par de sacos por la posibilidad de extravío de los mismos.

Aplicación de presión de bloqueo alta

1. Presión ejercida con el esfigmomanómetro menor de 70-100 mmHg se considera insuficiente -> Desviación de protocolo
2. Si la presión del esfigmomanómetro disminuye gradualmente por olvido de fijación de válvula que controla la salida del aire antes de realizar venopunción-> fijar la válvula. Dato recuperado.
3. Si la presión del esfigmomanómetro disminuye gradualmente por olvido de fijación de válvula que controla la salida del aire después de realizar venopunción-> Desviación de protocolo

9. DESARROLLO DEL ESTUDIO

9.1. Descripción de instalaciones Unidad Ensayos Clínicos la Princesa (UECHUP)

Los ensayos clínicos de bioequivalencia se llevan a cabo en la sala de Fase I. Ésta cuenta con doce sillones, uno para cada sujeto. Es posible realizar grupos de doce personas hasta alcanzar la totalidad de los sujetos reclutados.

Consta de tres consultas, dos carros donde se almacena el material más frecuentemente usado por los enfermeros y de la manera más accesible, así como de un carro de parada. Se encuentra estratégicamente localizada, en frente de la Unidad de Reanimación por si fuese necesario auxilio en caso de emergencia.

Consta de cuatro electrocardiógrafos, tres tensiómetros portátiles y uno fijo. Cuatro termómetros timpánicos, dos esfigmomanómetros anaeroides, dos fonendoscopios, un tallímetro y báscula. Dos aseos para uso de voluntarios con timbre, en caso de auxilio, así como cámaras de seguridad y una sala de uso común para el personal implicado.

9.2. Dinámica del trabajo Unidad Ensayos Clínicos la Princesa (UECHUP)

En cualquiera de los ensayos de bioequivalencia se reclutan sujetos que cumplan criterios de inclusión y exclusión sobreañadidos a los descritos anteriormente.

Supone un ingreso alrededor de 24 h, según el diseño de cada ensayo, y la canalización endovenosa a cada sujeto para realizar la farmacocinética de cada fármaco.

Se realiza una visita de reclutamiento para informar del ensayo clínico en cuestión, se entrega la Hoja de Información al Paciente y el Consentimiento Informado.

Se asegura que no portan ninguna enfermedad; se realiza lo siguiente:

- Extracción sanguínea y urinaria. Bioquímica, Hematología, Serología y sedimentación urinaria.
- Constantes vitales. Tensión Arterial (TA), Frecuencia Cardíaca (FC), Temperatura (T).
- Antropometría. Peso, Talla, Índice de Masa Corporal (IMC)
- Electrocardiograma (ECG).
- Examen físico. Tratamiento concomitante.

En dicha visita se llevara a cabo, sólo la selección de los sujetos según los criterios de inclusión/exclusión del ensayo que se lleve a cabo en la unidad.

Los sujetos ingresan la noche anterior al día prefijado para realizar la farmacocinética. Día siguiente, a las 08:00h, se comienza la canalización endovenosas por parte del equipo enfermero. Los sujetos permanecen en ayuno desde la cena del día del ingreso. El medicamento siempre es administrado después de la canalización y una vez se ha extraído una muestra basal sanguínea en tubos cuyo aditivo es el ácido etilendiaminotetraacético dipotásico (K2EDTA).

9.3. Dinámica entre UECHUP-ENSAYO ECYPVEN-H/17

Es el día de la farmacocinética o, día dos de ingreso del ensayo de bioequivalencia, cuando se llevará a cabo la aplicación de las tres intervenciones y el comparador.

9.4. Desarrollo del trabajo de campo del ensayo

La primera valoración de la escala VIA (36) se llevará a cabo, según número de puntos de punción óptimos (*PPO*), antes de la aplicación del brazo asignado por la investigadora principal y corresponderá a los criterios de inclusión y exclusión; valoración pre-intervención. Ésta se transcribirá como primera valoración escala VIA (36). *APÉNDICE A*.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

En las intervenciones se evaluará dos veces la escala VIA (36). La segunda valoración se realizará posterior a la aplicación de la intervención o comparador asignada aleatoriamente; y antes de realizar la venopunción. APÉNDICE B.

En el caso del comparador sólo se evaluará una vez; no se valorará si denota cambio de estadio, pues no se aplica intervención. Si éste corresponde al primer periodo se transcribirá el estadio del registro de los criterios de inclusión/exclusión, si corresponde al segundo periodo lo valorará el enfermero correspondiente. APÉNDICE C.

En ambos casos, se aplique la intervención o comparador se registrará el éxito o fracaso en venopunción exitosa al primer intento. En el caso de fracaso, se registrará el número de intento al que fue posible la canalización. Tabla 2.

ORGANIGRAMA	POR	VISITAS
VISITA RECLUTAMIENTO	PRIMER DÍA INGRESO	SEGUNDO DÍA INGRESO
1. Hoja de información al sujeto 2. Consentimiento informado firmado. 3. Formación a los enfermeros que figuran en planilla.	X	1. Selección de sujetos según criterios inclusión/exclusión. Escala VIA. 2. Asignación aleatoria con sobres cerrados. 3. Aplicación del brazo asignado aleatoriamente. 4. Segunda valoración escala VIA. 5. Registro del dolor escala EVA. 6. Registro de tipos de piel FITZPATRICK 7. Evaluación de hemolisis.

Tabla 2. Organigrama por visitas. Elaboración propia.

Este organigrama, Tabla 2, será específico del primer periodo del ensayo clínico. Se ha elaborado otro organigrama detallado para los dos periodos del estudio en el apartado 9.7.3.

9.5. Control de calidad. Monitorización

El presente trabajo no cursa con un monitor puesto que la promotora e investigadora principal coinciden en la misma persona. Además, al considerarse un estudio de bajo nivel de intervención, se establece lo siguiente:

El concepto de «ensayo clínico de bajo nivel de intervención» sobre el que llama a adoptar normas menos rigurosas en aspectos como la monitorización, el contenido del archivo maestro o la trazabilidad, sin menoscabo de la seguridad de los individuos que participan en ellos (2).

Sin embargo, la investigadora principal de este ensayo y la investigadora principal del ensayo clínico de bioequivalencia e investigadora colaboradora de éste, se encargarán de monitorizar

el transcurso del ensayo clínico de acuerdo a lo establecido en el protocolo. Así mismo, son las responsables de la buena marcha del estudio, de efectuar controles de calidad y el grado de cooperación de diferentes colaboradores no mencionados en este documento.

9.6. Monitorización de la termorregulación

La temperatura y humedad ambiental será monitorizada con un reloj ambiental, *ohlhaus&co.*[®], con marcado CE. Recogerá la temperatura de toda la fase I; entre 23 y 25 °C con una humedad de 27 y 31% aproximadamente. Así mismo, la luz será siempre artificial.

La vestimenta de los sujetos se encuentra armonizada por un pijama hospitalario de algodón. Por lo tanto la termorregulación se considera que está aproximadamente armonizada y que la variabilidad intersujeto en dicho aspecto no es elevada.

9.7. HALLAZGOS CLÍNICOS Y RECURSOS MATERIALES IMPLICADOS

9.7.1. Evaluación del dolor

La evaluación del dolor se llevará a cabo a través de la escala validada Escala Visual Analógica (EVA) /numérica (45). Escala lineal del cero al diez, del mínimo dolor al máximo dolor percibido, escalada con números enteros en orden creciente. Se considera pertinente el uso de esta escala por haber sido validada para la detección del dolor tanto crónico como agudo; a través de cambios de temperatura y para grupos de individuos (45,46).

Se le proporcionará al individuo dicha escala, en formato papel, para que autoexpresé el dolor percibido en la canalización venosa con el método asignado aleatoriamente. Se le proporciona inmediatamente después de la fijación de la vía. APÉNDICE D.

9.7.2. Evaluación de tipos de piel

Se realizará una evaluación del tipo de piel según la escala validada de Fitzpatrick. Escala comúnmente utilizada en el ámbito de la dermatología, que consta de seis tipos de piel según sus características visuales y la frecuencia de quemado ante la exposición solar (47). El fototipo uno hace alusión a piel blanca que siempre se quema con la luz solar y, el fototipo seis hace alusión a piel oscura que nunca se quema. La identificación de estos fototipos es autoexpresada por el sujeto, valorando la región anatómica medial del brazo; parte considerada por expertos como menos expuesta a la luz solar (47,48).

Ha sido evaluada la concordancia del tipo de piel autoexpresada según esta escala y la concentración de melanina con espectrofotometría. Algunos estudios coinciden en el hallazgo de concordancias en algunos fototipos y en otros no, pero señalan que podría ser por la

autoevaluación del sujeto; aun así todos ellos consideran que es un buen estimador del tipo de piel. Sin embargo, otros estudios si han validado la escala para todos los fototipos sólo en mujeres (49), y otro estudio ha validado cinco de los seis fototipos, a excepción del primero, por las características de su muestra accesible mixta (50). Todos los hallazgos consideran apropiada la escala para valorar el tipo de piel según el color y la frecuencia de bronceado/quemado, y no así para identificar la disposición genética. Por lo tanto, se podría considerar oportuno el uso de la escala Fitzpatrick para identificar el tipo de piel y la frecuencia de posibles eritemas causados por el calor tóxico en este estudio (47). APÉNDICE E.

Se le dotará a los individuos de dicha escala, en formato papel, y serán ellos mismos los que señalen el ítem en el que se encuentran identificados. Se les recordará que deben fijarse en la región medial del brazo.

9.7.3. Evaluación de hemólisis

Tras búsqueda bibliográfica, no se ha hallado metodología validada para valorar dicho constructo por lo que se pretende diseñar una escala, en términos espectrofotométricos de absorbancias y colorimetría; a través de imágenes y/o fotografías, y posteriormente validar dicha escala a lo largo del trabajo de campo. Se llevará a cabo en la extracción de muestras sanguíneas en diferentes horas a lo largo del ingreso de los sujetos sanos en la UECHUP.

Se han descrito diferentes interferencias cruzadas para la hemólisis, que podrían sesgar la identificación de su intensidad, tanto en absorbancia como en detección visual (51, 52,53) y, por lo tanto, interferir en algunas determinaciones analíticas. Se identifican dichas interferencias cruzadas como la bilirrubina y la lipemia, pudiendo provocar un color “amarillento” y/o “turbidez” en el plasma respectivamente (53). En general se conoce que la lipemia actúa sobreestimando la intensidad de hemólisis e indirectamente la exactitud en la determinación de constituyentes sanguíneos y la bilirrubina denotado un efecto de infraestimación en la intensidad de hemólisis y exactitud de las determinaciones de otros constituyentes sanguíneos en concentraciones, medidas en miligramos/decilitro (mg/dl) (30). Además, Saldaña IM et al ha demostrado, en su interferograma, que existe una relación de no linealidad entre la concentración de hemoglobina libre en plasma y la determinación de bilirrubina total, denotando una infraestimación del mismo en pequeñas concentraciones de hemoglobina extraeritrocitaria y posteriormente produciendo una sobreestimación. De la misma manera, enuncia que no sólo depende de la cantidad de hemoglobina, sino también de la concentración de bilirrubina. (54). La hemólisis, sin interferencias cruzadas, altera la exactitud de algunas determinaciones analíticas, generalmente, incrementa la concentración de aquellas

determinaciones que se presentan en grandes concentraciones a nivel intracelular, y disminuye aquellas que se encuentran en concentraciones bajas (53). En la actualidad se están utilizando los índices séricos como parámetros para evaluar la intensidad de hemólisis, en un término semicuantitativo, defienden el uso de la absorbancia para la medición de los mismos; sin embargo, ningún fabricante suministra calibradores y controles para dichos índices, lo que impide valorar sus prestaciones analíticas (30, 51,53). Se denota que a 414 nanómetros (nm), donde se encuentra generalmente la máxima intensidad de hemoglobina libre en plasma, es un punto específico de medición en el que las curvas de absorbancias de bilirrubina y lipemia se solapan; entre 400nm y 540 nm para la detección de ictericia cuya máxima expresión se evidencia a 460 nm, y entre 300 nm y 700 nm para la lipemia sin pico máximo de expresión pero óptima absorbancia a 300 nm. Farrell CJ et al propone un factor de corrección para eliminar dichas interferencias la cual no aporta. Como consecuencia, se eliminará una posible interferencia cruzada de hemólisis monitorizando la bilirrubina de los sujetos a través de análisis sanguíneos en la visita de *screening* del estudio de bioequivalencia. Para la lipemia, se programarán el análisis de aquellas muestras sanguíneas que queden lo más lejanas posibles, en tiempo, desde la ingesta de alimentos de los voluntarios; pues se evidencia que la causa más común de lipemia es la ingesta reciente de una comida alta en grasas saturadas (53). Por lo tanto no se considera necesario realizar ningún factor de corrección para la interfencia cruzada de bilirrubina, sin embargo, si podría ser útil someter a aquellas muestras sanguíneas en las que se sospeche lipemia a una absorbancia de 650 nm, según el horario establecido para la extracción y su relación temporal postprandial. A pesar de que a 300 nm la absorbancia de lipemia es mayor, interfiere con la hemoglobina extraeritrocitaria; no así a 650 nm (53). Si hubiere lipemia presente, a pesar de su evitación, estaría representando a la población diana y la realidad pues se manifiesta un aumento de muestras sanguíneas sin haber respetado un ayuno e incluso se permiten dichas condiciones en algunas guías para la evaluación de riesgo cardiovascular (53); por lo que se considera que podría estar justificado el método de ajuste a lo que los autores proponen.

La valoración de la hemólisis se va a realizar mediante absorbancias de hemoglobina extraeritrocitaria tras una centrifugación de éstas. Los recursos materiales implicados y su uso son los siguientes:

1. NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer Thermo Scientific

Dispositivo, de pequeño tamaño, aproximadamente, de 20 cm de ancho, 14 cm de profundidad y 20 cm de alto, dotado de un amplio espectro de Ultravioleta-Visible (190-840 nm) para

microvolúmenes de 0,5 a 2 microlitros de muestra inicial a través de fibra óptica. Cuenta con la medición de muestras muy concentradas sin necesidad de diluciones previas. Se medirá la cuantificación de la absorbancia de la oxihemoglobina a 414 nm a través de gota de uno a dos microlitros de la sustancia a analizar. Sobre dicha sustancia el dispositivo emite un haz de luz que atraviesa la muestra. Según el haz de luz atravesada y, por lo tanto, recibida se considera transmitancia. A pesar de que la transmitancia conlleva pérdidas por dispersión en la solución, se considera, según la Ley de Lambert-Beer, que la transmitancia y absorbancias se encuentran inversamente relacionadas. La absorbancia es la intensidad de luz que el componente químico de la muestra retiene y, por lo tanto, es lo opuesto a la luz recibida. Como consecuencia, la absorbancia se mide con el opuesto del logaritmo de la transmitancia, se expresa de la siguiente manera: $A = -\log T$

Será necesario el uso de la centrífuga *Hermle z326K*, centrífuga con posibilidad de refrigeración. Pipetas automáticas de diferentes rangos de microlitros de la marca *Eppendorf Research Plus*.

Se utilizarán los tubos cuyo aditivo es el ácido etilendiaminotetraacético dipotásico (K2-EDTA) que serán centrifugados a 3500 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos a 4 °C.

El plasma de las muestras sanguíneas se trasvasará a alícuotas con capacidad de 1,4 ml aproximadamente. El material biológico a trasvasar será de 1 ml, aproximadamente, independientemente del obtenido. El posible plasma restante será desechado a un contenedor biológico y destruidas según el procedimiento habitual y marcado por el ensayo clínico con medicamentos.

La pertinencia de dicho recurso material se podría justificar por lo siguiente:

1. Cobertura en la Unidad de Ensayos Clínicos e Investigadores Colaboradores.
2. Capital aceptable, en comparación con otros métodos.
3. Método objetivo y sensible a los cambios respaldado por Janish S et al (52).
2. Photoshop CC.

Aplicación destinada para la identificación del color en un punto fijo, o varios, de una fotografía. Mediante la herramienta de “cuenta gotas” se marcará un punto, o varios, del suero fotografiado. El programa emite los valores en RGB y CMYK automáticamente.

3. Cámara fotográfica

Las fotografías se realizarán a través de la cámara SONY® SLT-α58 con sensor CMOS HD y filtro RGB con marcado CE.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

El diseño y la validación de la escala se encuentran recogidos, detalladamente, en el apartado 14.2.3.

ORGANIGRAMA DE HALLAZGOS CLÍNICOS POR PERIODOS		
PRIMER PERIODO	PERIODO DE LAVADO	SEGUNDO PERIODO
Registro del dolor escala EVA/Numérica Registro de tipos de piel FITZPATRICK Evaluación de hemólisis. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Muestra basal ▪ Muestra vespertina ▪ Muestra nocturna 	X	Registro del dolor escala EVA/Numérica Registro de tipos de piel FITZPATRICK Evaluación de hemólisis <ul style="list-style-type: none"> ▪ Muestra basal ▪ Muestra vespertina ▪ Muestra nocturna

Tabla 3. Organigrama de evaluación hallazgos clínicos por periodos. Elaboración propia.

Se contempla un ejemplo del cuaderno de recogida de datos para los dos periodos en el APÉNDICE F.

9.8. RIESGOS-BENEFICIOS

A. RIESGOS

Derivados de las intervenciones

Posible eritema local debido a la aplicación de calor tópico seco. Sólo se han registrado en aquellos individuos que denotan pieles “sensibles”; sin ser visible en pieles “no sensibles”. Además, se ha documentado que remite a los pocos minutos sin necesidad de tratamiento (37).

Posible parestesia transitoria en el brazo aplicado la presión alta con el esfigmomanómetro a causa de superar una presión arterial media de 100 mmHg. No se ha documentado ningún caso (37) aunque se contempla la posibilidad del mismo. Se solventa asegurando la presencia de pulso radial en dicho miembro superior.

Derivados de la venopunción

Posible hematoma y dolor debido al procedimiento de venopunción en sí mismo. Así como un síncope vasovagal. También se contempla la sensación de dolor debida a la presión ejercida por el compresor elástico, cuyo origen se achaca al tipo de material más que a la presión que ejerce.

Derivados de la valoración de las muestras sanguíneas

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

No se ha registrado ningún riesgo, ni directo ni indirecto, por la observación de plasma en muestras sanguíneas.

B. BENEFICIOS

Se han registrado efectos beneficiosos en el aumento de la percepción venosa antebraquial, paso previo a la venopunción, con la aplicación combinada de presión y calor (37). Por lo tanto, sugiere un posible efecto beneficioso en la canalización endovenosa exitosa en una menor cuantía de intentos.

No se ha registrado ningún beneficio directo sobre el paciente en la observación del plasma de las muestras sanguíneas. Sin embargo, se podría considerar que el beneficio indirecto estaría directamente relacionado con la trascendencia de los hallazgos clínicos.

C. EVALUACIÓN DEL BALANCE RIESGO-BENEFICIO

Como consecuencia, el eritema local que remite en minutos reflejaría mayor beneficio que la aparición de hematoma de duración prolongada a días; producida por canalización endovenosas fallidas. La parestesia transitoria, con fácil solución, podría reducir el dolor percibido por el sujeto, cuyo impacto sería beneficioso. Tanto el dolor de la venopunción y el síncope vasovagal cursan con reducción de los mismos cuanto menor es el número de intentos en venopunción.

Supone un aumento de los recursos para una segunda o tercera canalización endovenosa, tanto de recursos materiales implicados en la técnica de venopunción como el destinado al tratamiento de hematoma y síncope vasovagal, así como el tiempo de los enfermeros. A esto se le suma el tiempo de oportunidad; la ausencia de inversión del mismo en otros objetivos o actividades, y el discomfort del sujeto.

La trascendencia de los hallazgos clínicos de hemólisis superaría a las posibles molestias generadas por la observación de uno-dos microlitros de plasma.

A raíz de lo descrito anteriormente, se podría concluir que los beneficio atribuidas superan los riesgos aceptables.

9.9. FINALIZACIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO

Se considera que el trabajo de campo ha finalizado cuando se le ha aplicado el brazo asignado aleatoriamente y venopunción en el primer intento al sujeto número 54. En el caso en el que alguno de los sujetos cursase con reacciones adversas se prolongará la finalización del trabajo

de campo hasta que cese dicha reacción. En ese momento comienza la introducción de los datos en el programa SPSS v23.

10. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD

10.1. Alcance de la efectividad del ensayo clínico

Se considerará alcanzada la efectividad cuando se alcance un parámetro clínicamente relevante en venopunción, apartado 10.2.1, y, siempre que sea posible, se intentará alcanzar la efectividad global, apartado 10.2.

10.2. Alcance efectividad global

10.2.1. Parámetro clínicamente relevante en venopunción

Se considerará alcanzada una efectividad óptima para la venopunción al primer intento cuando alguna de las tres intervenciones consiga superar el porcentaje de éxito al primer intento a través de práctica clínica habitual. Es decir, cuando se consiga un porcentaje de éxito superior al 74% (55).

10.2.2. Parámetro clínicamente relevante en dolor

En la totalidad de las canalizaciones endovenosas al primer intento con alguna de las intervenciones, deberán ser mayores los casos con puntuaciones de dolor *leve-moderado* y *moderado grave* frente a los casos con *dolor muy intenso*. Es decir, las puntuaciones del cero al seis, incluidos, deberá ser mayor que las puntuaciones del siete al diez, incluidos (46)

10.2.3. Parámetro clínicamente relevante en hemólisis.

En las muestras basales, extraídas inmediatamente posterior a la aplicación de cualquiera de los brazos del ensayo, deberían ser menores de 25 mg/dl (54). No se medirán concentraciones pero, éstas deberán cursar con una inspección visual y/o absorbancia menor a lo que corresponda, mediante bibliografía, dicho punto de corte.

11. EVALUACION DE LA SEGURIDAD

11.1. Parámetros de seguridad. Imputabilidad.

11.1.1. Imputabilidad del dolor y constantes vitales

Se considera parámetro de no seguridad según el dolor cuando se alcancen puntuaciones, en escala EVA, de siete a diez, ambas incluidas, las cuales son consideradas como dolor muy intenso, según Pardo C et al.(46). Ya sea tras la venopunción con la aplicación de alguna de las tres intervenciones o, tras la aplicación de éstas pero antes de la venopunción. Es decir, el dolor será un parámetro de seguridad en la aplicación de las intervenciones antes y/o después de la

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

implantación del catéter endovenoso, englobando el dolor experimentado durante el procedimiento completo.

Así mismo, como consecuencia del dolor y los cambios fisiológicos se considerarán parámetros normales (15,38):

TA: 120/60 mm Hg

FC: 60-90 lpm

Se monitorizarán dichos parámetros solamente cuando el sujeto declare un dolor en la escala considerado como “no seguridad”.

11.1.2. Imputabilidad del calor tóxico seco. Tipo de piel

Se considerará parámetro de no seguridad cuando, en los tipos de pieles IV, V y VI aparezca eritema local y en los fototipos I, II y III aparezcan quemaduras de primer grado. Se espera, que en pieles *sensibles* aparezcan eritemas locales (37).

11.2. Monitorización de la seguridad

11.2.1. Registro de efectos secundarios

Se llevará a cabo un registro de los eventos secundarios y las reacciones adversas sintomáticas y específicas, que serán valoradas por inspección visual. Serán los enfermeros, los cuales apliquen cada brazo, los responsables de la inspección visual y la comunicación de la reacción adversa, si hubiere, a la investigadora principal y/o investigadora colaboradora. Tanto la investigadora principal, investigadora colaboradora, como los enfermeros colaboradores podrán registrar cualquier efecto secundario (9). APÉNDICE F.

La definición de reacciones adversas precisa adaptación a los productos sanitarios. Su parición se considera a partir de la aplicación de cualquier intervención y/o del comparador. Se realizará una aproximación de la causalidad entre el efecto y el método aplicado; según lo que establece la Organización Mundial de la Salud (OMS (56) APÉNDICE G:

1. Cierta
2. Probable.
3. Posible.
4. Improbable
5. Condicional/No clasificada
6. No evaluable/ Inclasificable

Así mismo, se registrará la gravedad; según la OMS (57), con modificación, APÉNDICE H:

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

1. Grave.
2. Moderada.
3. Leve.
4. Incidental.

Se calculará la frecuencia de aparición de las mismas según lo que establece la *Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS)* (58):

1. Muy frecuente: Se producen con una frecuencia mayor o igual a 1 caso cada 10 pacientes.
2. Frecuente: Se producen con una frecuencia mayor o igual que 1/100 pero menor que 1/10.
3. Infrecuente: Se producen con una frecuencia mayor o igual a 1/1.000 pero menor de 1/100.
4. Rara: Se producen con una frecuencia mayor o igual a 1/10.000 pero menor que 1/1.000.
5. Muy rara: Se producen con una frecuencia menor de 1/10.000.

Se seguirá cada caso hasta que cese, y se registrará el método utilizado para remitir dicho efecto.

Se ha registrado como efecto adverso del calor tópico seco la aparición de eritema local (37). Así mismo, se espera la aparición de hematoma a causa de punción traumática.

Se considera que el registro de los efectos secundarios en este ensayo podría estar justificada por ser unos de los objetivos de la investigación clínica con productos sanitarios, tanto en las condiciones de uso para las que han sido acreditados como para aquellas que no lo han sido aún. De esta manera, se pretende aumentar el conocimiento sobre los posibles riesgos, y que éstos no superen los beneficios, así como la factibilidad de la implantación del mismo para el uso que se le pretende conceder en el presente ensayo clínico (9).

11.2.2. Reacciones adversas graves e inesperadas (RAGI). Notificación

No se prevén reacciones adversas graves e inesperadas con los productos sanitarios utilizados en este ensayo. Sin embargo, si se produjesen se procedería a su registro de la misma manera que para los efectos secundarios y se procedería a su notificación; apartado 11.2.3.

11.2.3. Notificación de RAGI

La notificación se llevará a cabo de manera temprana y en el menor tiempo posible desde la aparición de dicha reacción. La responsabilidad de la notificación recae sobre la investigadora principal. Se notificará a la investigadora principal del ensayo clínico de bioequivalencia, Comité Ético de Investigación Clínica con medicamentos y productos sanitarios (CEIm) implicado y a la

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitario (AEMPS), departamento de productos sanitarios implicado.

La notificación a la AEMPS de las RAGI se llevará a cabo según establece la AEMPS en el entorno nacional. Se realizará en lengua española, notificando a través del portal FEDRA; cuando se obtenga acceso al mismo.

En el caso impedimento en el acceso a dicho portal, se remitirá por fax, al número (+34) 91.822.50.76 , o bien, a través de CD/DVD con correo postal adjuntando la carta de acompañamiento y formularios validados destinados para tal uso; disponibles en su guía (59).

Además, se pretende notificar las RAGI en Eudravigilance-CT.

11.2.4. Seguimiento de los eventos secundarios y/o RAGI.

El seguimiento se llevará a cabo en persona y, si no es posible, de manera telefónica o vía e-mail. Así mismo, el tiempo de seguimiento no está establecido y será el tiempo necesario hasta que cese, será el propio efecto el que marque la temporalidad.

12. ASPECTOS ÉTICOS Y ECONÓMICOS

12.1. Aspectos éticos

12.1.1. Marco legal del ensayo

Los principios éticos, metodológicos y protección de los sujetos del presente estudio se rige por lo contemplado en el BOE 307 *Real Decreto 1090/2015, de 4 de Diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos* a través del cual se amparan los derechos de respeto, beneficencia, no maleficencia y justicia prevaleciendo sobre cualquier otro interés (2). De la misma manera, se salvaguardarán todos los principios contemplados en la declaración de Helsinki, aplicables a la investigación y competencia enfermera. ANEXO IV.

El presente ensayo clínico se podría considerar de *bajo nivel de intervención*, de acuerdo a la definición establecida para este tipo de ensayos por el *Real Decreto 1090/2015* (2).

Así mismo los productos sanitarios utilizados en el presente estudios se consideran activos de acuerdo al *Real Decreto 1616/2009, de 26 de octubre, por el que se regulan los productos sanitarios implantables activos*. (9).

12.1.2. Notificación a entidades y comités (CEIm)

Según lo establecido en la AEMPS y la legislación vigente, se prevé la necesidad de la notificación de la existencia e intención de llevar a cabo el presente ensayo clínico a la AEMPS, siempre y

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

cuando se haya obtenido previamente el dictamen favorable de un CEIm (2, 9,12,). Así mismo, se prevé la solicitud de exención de tasas, por tratarse de una investigación independiente de carácter académico.

Se considera justificado la no expedición de una aprobación de la AEMPS por considerarse este estudio como un *ensayo clínico de bajo nivel de intervención*, en el cual todos los productos sanitarios se encuentran comercializados. Ambos se consideran de clase IIa según la clasificación de la AEMPS y, aunque en el caso de los sacos de semillas no ostentan el marcado CE lo que podría justificar su investigación clínica, se van a utilizar para un fin diferente al acreditado. Sin embargo, su aplicación se va a llevar a cabo según las instrucciones de uso descritas para los fines que si están acreditados de cada producto sanitario implicado en el estudio.

12.1.3. Normas generales para los investigadores colaboradores

Todo el personal implicado en la colaboración del presente ensayo clínico posee un certificado de Buenas Prácticas Clínicas (BPC) vigente; menor de dos años de antigüedad.

De esta manera se facilita la aceptación de los datos que se presenten, derivados de la conformidad de este protocolo. Así se asumen las normas de calidad y las directrices de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) sobre la buena práctica clínica (2).

Además, se asegura, mediante un registro, que todos los componentes del equipo trabajan de manera armonizada según los PNTs de la UECHUP.

12.1.4. Hoja de información y consentimiento informado

En primer lugar, se le informará al individuo de la intervención de manera oral como escrita a través de la hoja de información. Será necesario que escriba su nombre, fecha de nacimiento y el nombre del profesional que le haya explicado la información en el consentimiento informado de su puño y letra. Posteriormente, se recogerá la firma y fecha de la conformidad del sujeto, así como de la investigadora principal delante de éste y se le dotará de un ejemplar original tanto de la hoja de información como del consentimiento informado; APÉNDICE I.

Se ha considerado oportuno elaborar una casilla correspondiente a la evaluación de la hemólisis. Se considera que podría estar justificado porque no se requiere de extracciones sanguíneas adicionales a las ya estipuladas, tampoco se ve afectada la manipulación de los accesos venoso periféricos más de lo previsto, se recopilarían dos microlitros en como máximo en cada muestra; por último, su análisis no tiene vinculación alguna con datos genéticos ni cualquier otro dato de carácter personal. Además, su evaluación será ciega (60).

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

El sujeto podrá realizar todas las preguntas que considere pertinentes y serán contestadas, así mismo, podrá revocar su conformidad en cualquier momento, sin consecuencias negativas y sin necesidad de aportar una justificación argumentada. No se llevará a cabo ningún procedimiento si no se ha recogido la conformidad debidamente cumplimentada por cada sujeto.

12.1.5. Confidencialidad. Acceso a la información.

La protección de los datos de los participantes, ya sean de carácter personal como relativos a la salud, se mantendrán codificados, con dos dígitos, de manera reversible, mediante el documento elaborado para ello en el APÉNDICE J. Dicho documento solo tendrán acceso la promotora e investigadora principal y la investigadora colaboradora figurantes en el ensayo. Dicho fichero será confidencial y no saldrá de la institución donde ha sido recogido, UECHUP. De esta manera se pretende abordar la seguridad de los datos según lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (61).

Los datos se recogerán en formato papel y se creará un cuaderno de recogida de datos (CRD). Se disociará el código con los datos personales de cada individuo de manera reversible hasta que finalice su ingreso o bien remita el efecto adverso; en cuyo caso.

Los datos codificados y, posteriormente anonimizados, sólo serán usados para comprobar el recuento muestral y que no se extravíe ningún sujeto en la transcripción de la información a la base de datos estadística SPSS versión 23 para su posterior análisis estadístico. Sólo tendrá acceso la investigadora principal, en primera instancia, para evitar la alteración del tratamiento de los datos y controlar el acceso a los mismos (61).

Todos los datos recogidos quedan sometidos al secreto profesional durante y después de la investigación, así como a su almacenamiento salvaguardando la integridad y legibilidad de los mismos durante, al menos veinticinco años tras la finalización del estudio (2,61). Si hubiere en algún caso una inspección, éstos tendrán acceso a los datos, siempre y cuando mantengan el secreto profesional, según lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (61).

12.2. Aspectos económicos**12.2.1. Seguro**

Como consecuencia de tratarse de un *ensayo clínico de bajo nivel de intervención*, los riesgos atribuibles se consideran mínimos comparados con los de la práctica clínica habitual y de acuerdo a lo establecido para éstos por el Real Decreto 1090/2015 (2) en el capítulo III artículo nueve de *indemnización por daños y perjuicios*, se considera que no es necesario el contrato de

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

un seguro específico para el presente ensayo y que podría quedar respaldado por el seguro del ensayo clínico de bioequivalencia en el que se aplique el presente protocolo.

12.2.2. Memoria económica del ensayo

Todo el material adicional necesario corre a cuenta de la promotora e investigadora principal de este ensayo clínico. Es decir, la cobertura de los esfigmomanómetros, sacos de semillas, termómetro de temperatura ambiental, cronómetro cuenta atrás portátil, cámara fotográfica, papelería y tóner. APÉNDICE K

Así como la formación de los enfermeros, colaboradores/observadores y la adquisición del programa Photoshop y paquete estadístico SPSS versión 23.

No se contemplan bienes económicos ni presupuesto económico para los recursos materiales por parte de externos a la investigación.

13. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS**13.1. Formación del equipo enfermero y colaboradores/observadores**

Se considera necesaria la formación del equipo enfermero con ciertas escalas que, excepto la escala EVA/Numérica, no son de uso común en la práctica clínica habitual. Así mismo, las intervenciones requieren de un conocimiento específico a priori.

No se contempla un entrenamiento, pues los enfermeros se encuentran familiarizados con los recursos materiales que van a utilizar, sólo se prevé una formación con la posibilidad de realizar preguntas y éstas ser solventadas y/o aclaradas. La investigadora principal pertenecerá al equipo enfermero colaborador y dará soporte a éstos en el trabajo de campo.

Situación similar es la de los colaboradores/observadores de la intensidad de hemólisis. Se formará a los implicados en la evaluación de las muestras sanguíneas, aunque se encuentran entrenados en el uso del material implicado. APÉNDICE L.

13.2. Archivo de la documentación

A lo largo del estudio se creará un archivo con todos los documentos implicados a lo largo del presente ensayo. Se incluirán, al menos, los siguientes:

- Dictámenes de CEIm y AEMPS
- Copia impresa de la hoja de información y consentimiento informado.
- El protocolo impreso, así como sus enmiendas; en cuyo caso.
- Cualquier correspondencia con el CEIm.
- Registro de firmas del equipo enfermero colaborador. APÉNDICE M.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

- Cualquier documento relacionado con la aceptación de viabilidad del proyecto en la institución.
- Notificación de RAGI.
- Registro de la codificación reversible de los sujetos.
- Los CRD completos (CRD venopunción antebraquial y CRD intensidad hemólisis).

Los CRD completos se consideran cuando al CRD de venopunción antebraquial de cada sujeto se le adjunte el CRD de intensidad de hemólisis. Se ha considerado oportuno realizar dos CRD y, con la finalización del trabajo de campo fusionarlos, por la necesidad de la evaluación ciega de hemólisis. De esa manera, se pretende completar los CRD en dos salas de trabajo diferentes: CRD de hemólisis en el laboratorio y los correspondientes a la venopunción en la sala de Fase I; evitando vulnerar el cegamiento.

Se estima que una vez finalizado el estudio, se procederá a guardar los ficheros donde se han registrado los datos de carácter personal de los sujetos, bajo las mismas condiciones que las reflejadas en el apartado 12.1.5.

13.3. Condiciones de publicación de resultados

Una vez finalizado el trabajo de campo, los datos se disociarán de manera irreversible y por lo tanto se obtendrán datos anonimizados. Se considera irreversible cuando *establecer el nexo entre un dato y el sujeto al que se refiere deja de ser posible por medios razonables* (2,61).

Sólo podrá cederse información a terceros los datos que se encuentren anonimizados (61).

13.4. Enmiendas al protocolo

Cuando se produzcan enmiendas al protocolo se procederá a la notificación de las mismas al CEIm y AEMPS para su valoración y posterior dictamen.

14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EPIDEMIOLÓGICO

14.1. Análisis principal

14.1. 1. Definición de variables

Variable primaria

Venopunción exitosa al primer intento. Variable cualitativa dicotómica. Éxito/Fracaso.

Variables secundarias

Frecuencia venopunción exitosa. Variable cuantitativa discreta. (1,2,3,4)

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Intensidad visual de hemolisis. Variable cuantitativa discreta. Se mide en estadios.

Escala de intensidad del dolor expresada (EVA). Variable cuantitativa discreta.

Escala de tipos de piel de Fitzpatrick. Variable cuantitativa discreta.

Ingesta de líquidos (menor de 500 ml) en las últimas 6-8h previas a la canalización. Variable cuantitativa discreta (medida en vasos); se transcribirá a continua para el análisis estadístico.

Filiación de individuos *APÉNDICE F*:

Ayuno respetado de 6-8 horas. Variable cualitativa dicotómica.

Edad. Variable cuantitativa continua.

Sexo. Variable cualitativa dicotómica.

Raza. Variable cuantitativa discreta. 1 -> Caucásico 2 -> Negra 3 -> Asiática 4 -> Latina

TA. Variable cuantitativa continua.

FC. Variable cuantitativa continua.

T. Variable cuantitativa continua.

IMC. Variable cuantitativa continua.

14.1. 2. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se realiza el cálculo muestral con la calculadora GRANMO (62). Se asume un riesgo aleatorio (alfa) del 5% y una potencia estadística (beta) del 80%; para lo que se pretende probar la veracidad de la hipótesis nula, de tipo bilateral.

Es decir, el riesgo de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es cierta es de un 5%, y la probabilidad de no rechazar a ésta misma siendo falsa es del 20%.

Se ha registrado, en la literatura, el éxito de canalizaciones endovenosas periféricas al primer intento, a través de técnica habitual, es de un 74% de los casos (55). En la actualidad, se ha registrado una proporción de canalización endovenosa periférica al primer intento del 73%, de manera ecoguiada (33). En relación al segundo intento exitoso, en la práctica clínica habitual asciende a un 92% de los casos y, en la ecoguiada a un 91% (33,55).

Para el presente trabajo se pretende conseguir un 95% de éxito en la canalización venosa antebraquial al primer intento. Así, superar con alguno de los métodos alternativos propuestos en este estudio la proporción acumulada del segundo intento de la práctica clínica habitual y ecoguiada.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Se considera una diferencia clínicamente relevante la canalización venosa exitosa al primer intento cuando, no sólo permita la canalización al primer intento de aquellos casos que hipotéticamente se observaría si no que acumule a aquellos casos que, de manera observada en la literatura, la canalización se ha logrado al segundo intento, e hipotéticamente, se pueda conseguir aquel éxito en el primer intento.

Puesto que los grupos serán pareados, cada sujeto se le aplica el método comparador y una de las intervenciones, disminuyendo la variabilidad intraindividual pero aumentando el riesgo de pérdida de sujetos entre el primer periodo y el segundo. Se considera, a raíz de la experiencia, que de los 12 individuos de un grupo, a lo sumo, uno de ellos se pierde; se ha realizado una media de ambos porcentajes, obteniéndose así un 12% de pérdidas aproximadamente.

Por lo tanto, se procede al cálculo del tamaño muestral a través de la modalidad de proporciones, medidas apareadas (repetidas en un grupo). Fijando en la proporción con acontecimiento pre-intervención 0.74, en la proporción con acontecimiento post-intervención 0.95, y proporción prevista de pérdida un 0,12.

Finalmente, el tamaño muestral estimado es de 60 sujetos.

14.1.3. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DE DATOS

14.1.3.1. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Se asume que de la variable primaria, al ser cualitativa dicotómica, no se conocen datos suficientes en lo que refiere a su distribución y por lo tanto se llevará a cabo técnicas estadísticas no paramétricas.

14.1.3.1.1. ESTADÍSTICA UNIVARIANTE

Para poder probar la veracidad de la siguiente hipótesis nula, en la muestra calculada previamente será necesario usar un test no paramétrico univariante para muestras relacionadas; test de Mc Nemar.

H₀: La venopunción antebraquial exitosa al primer intento no se ve afectada por el uso de métodos alternativos.

H₁: La venopunción antebraquial exitosa al primer intento si se ve afectada por el uso de métodos alternativos.

Los métodos alternativos hacen referencia a las intervenciones mencionadas anteriormente.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Si el test de Mc Nemar da como resultado un $p\text{-valor} < 0,05$ se podrá rechazar la hipótesis nula y aprobar la alternativa. Como consecuencia, surgirá la necesidad de saber qué método alternativo de los tres probados es el más efectivo.

14.1.3.1.2. ESTADÍSTICA MULTIVARIANTE

Por lo tanto, se considera pertinente realizar una regresión logística, estadística multivariante. Se asume la variable primaria como la variable dependiente y las variables secundarias como regresoras o explicativas. La variable primaria cumple con el requisito de ser dicotómica y las variables regresoras se asumen cualquier tipo de variable. Se asume la necesidad de crear variables *dummies* con los métodos alternativos, cuya referencia será el comparador.

14.1.3.2. MÉTODOS EPIDEMIOLÓGICOS

14.1.3.2.1. MEDIDA DE FRECUENCIA

Se considera pertinente llevar a cabo medidas de frecuencia del evento de éxito y fracaso. Se pretende abordar a través del cálculo de la incidencia acumulada (IA); todos los sujetos se miden en un mismo periodo de tiempo aproximado tanto en la exposición a los métodos como si apareciesen reacciones adversas. Así es posible conocer la probabilidad de desarrollar el evento de éxito en un periodo de tiempo.

Se va a calcular de la siguiente manera: $IA = \frac{N^{\circ} \text{ casos nuevos}}{\text{población en riesgo}}$

Se podría justificar dicha metodología por tratarse de un estudio prospectivo, en el que la variable tiempo no es la principal, sin embargo, se encuentra a lo largo del trabajo de campo.

14.1.3.2.2. MEDIDA DE ASOCIACIÓN

Para medir el efecto de la exposición de cada intervención se llevará a cabo una medición a través de:

Riesgo absoluto (RA): Recoge información del componente de causalidad. Es decir, la incidencia del éxito de venopunción al primer intento cuando los sujetos han sido expuestos a los métodos alternativos. Se medirá de la siguiente manera:

RA: IA expuestos – IA no expuestos

Riesgo relativo (RR): Recoge información de la fuerza de asociación entre la exposición de las intervenciones para desarrollar el éxito de venopunción al primer intento; respecto a la exposición a la práctica clínica habitual. Es decir, cuál es la probabilidad de desarrollar el evento

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

a estudio cuando los individuos son expuestos a los métodos alternativos, en relación a la exposición al método de referencia. Se realizará una aproximación a Odds-Ratio (OR) si procede.

RR: IA expuestos / IA no expuestos

14.1.3.2.3. MEDIDAS DE IMPACTO POTENCIAL

El cálculo del RA se considera también factor de impacto potencial.

Se considera que podría estar justificado calcular la fracción evitable puesto que el factor de exposición se considera protector, *a priori*. Proporción de fracasos en venopunción al primer intento que se podrían evitar si toda la población estuviese expuesta al factor de protección estudiado. Se pretende calcular de la siguiente manera:

FE= IA no expuestos – IA expuestos / IA no expuestos

14.2. ANÁLISIS SECUNDARIO PRINCIPAL

14.2.1. Definición de variables

Se establece como variable secundaria principal: Intensidad de hemolisis visual. Variable cuantitativa discreta. Se mide en estadios.

Ésta pretende efectuar el siguiente objetivo secundario: Diseñar y validar una escala visual de hemolisis.

Para llevar a cabo su abordaje, a través de métodos estadístico, se definen las siguientes variables secundarias:

- Absorbancia de hemoglobina libre en plasma. Variable cuantitativa continua. Se mide en decimales.
- Estadios. Variable cuantitativa continua. Se mide en rangos de absorbancias.
- Colorimetría RGB. Variable cuantitativa discreta. Se mide con códigos numéricos enteros.
- Colorimetría CMYK. Variable cualitativa continua. Se mide en porcentaje continuo.
- Muestras sanguíneas. Variable cuantitativa discreta.
- Observadores. Variable cuantitativa discreta.

Se define la siguiente variable de manera independiente, pues no se medirá ni se utilizará en el análisis estadístico. Sin embargo, se considera una variable implícita en la escala de la que se basa (29) el proyecto para llevar a cabo la modificación de ésta y, por lo tanto, el diseño de una nueva escala.

- Concentración de hemoglobina libre en plasma. Variable cuantitativa continua. Se mide en mg/dl.

14.2.2. POTENCIA ESTADÍSTICA Y CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se podría justificar la elección de dicha variable secundaria como principal por su potencia estadística, en relación al cálculo de tamaño muestral, para poder concluir con una significación estadística. Es decir, el tamaño muestral calculado para esta variable podría estar incluido en el tamaño muestral calculado para la variable principal; utilizando el mismo trabajo de campo.

Según un estudio (52) a un punto de corte de evaluación de hemoglobina libre en plasma a través de absorbancias y detección visual se expone lo siguiente: de quince muestras detectadas con absorbancias, ocho de ellas no fueron detectadas a visualmente. Es decir, la inspección visual cursa con una predicción positiva (VPP) del 46,6%. Se pretende probar la veracidad de dicho supuesto y para ello se plantea la siguiente comprobación de hipótesis, de tipo bilateral:

H ₀ : La predicción positiva de intensidad de hemólisis a través de estadios visuales no es óptima.	H ₁ : La predicción positiva de intensidad de hemólisis a través de los estadios visuales es óptima.
--	---

Se ha llevado a cabo un cálculo muestras GRANMO (62) en la modalidad de proporciones observada respecto a una referencia. Con un error alfa de 5% y una potencia de 1%, test bilateral. La proporción de referencia es 0.466 (52) y el objetivo es alcanzar una predicción positiva de al menos 0.80; se considera óptima para detectar la intensidad de hemólisis en cada estadio. Por lo tanto, la diferencia mínima a detectar se obtiene a través del objetivo de 0.80 – 0.466, es decir, 0,334. Finalmente se obtiene que se necesitan, al menos, 41 individuos o, lo que es lo mismo, 49 muestras sanguíneas con una proporción prevista de pérdidas del 20%; corresponde con posibles muestras con contenido sanguíneo insuficiente para su inspección.

14.2.3. DISEÑO DE LA ESCALA

14.2.3.1. DESCRIPCIÓN

1. Se partirá de una escala elaborada previamente (29). Ésta da soporte a la colorimetría de referencia y los puntos de corte sobre los que establecer estadios. Se consideran los puntos de corte, medidos en concentraciones (mg/dl), como relevancia clínica valorada por un panel de expertos; se encuentra en consonancia con otros autores (30,54) .
2. La muestra EDTA se someterá a procesamiento. Posteriormente, se trasvasa 1 ml del

plasma de cada muestra a alícuotas. Se realizará la fotografía de dicha alícuota sobre un fondo blanco, a través de la adhesión de una pegatina blanca en la parte posterior de ésta, y luz artificial.

3. Se someterá a absorbancia a 414 nm para conocer la intensidad. Se recogerán en total, entre cuatro y, como máximo, seis microlitros del plasma; a causa de la necesidad de dos a tres mediciones repetidas. En el caso de no realizar la tercera medición, opcional, se reflejará con una "X" para enunciar que no se ha olvidado.
4. Se descifrará la codificación que se asocia a un color específico de la escala de hemólisis para suero o plasma (29), a través del programa informático *Photoshop*. Éstos códigos serán referencia para reunir otros códigos de colores diferentes pero que se encuentren estrechamente relacionados; provienen de las fotografías de las alícuotas.
5. Las fotografías del trabajo de campo se trasladarán al programa de *Photoshop*. Según la intensidad del color, se obtendrá un código RGB y CMYK y serán posicionada entre los colores establecidos por la escala de referencia (29). Figura 2.
6. Los colores evidenciados son puntuales, por lo que, se estimarán códigos de colores intermedios, entre las muestras, de menor a mayor intensidad para abordar una hipotética variabilidad interindividual que no se haya encontrado en el trabajo de campo. Figura 3.

Se elaborarán dos versiones de diseño:

- VERSIÓN 1. Corresponde con el degradado de colorimetría. Figura 3.
- VERSIÓN 2. Corresponde con la asociación de las fotografías realizadas, reemplazando al degradado de colorimetría. Figura 4.

Se excluye la ictericia por ser sujetos sanos, e intentar disminuir lipemia a través de extracciones sanguíneas estratégicamente programadas, tal y como figura en el apartado 9.7.3.

En primera instancia, se emplearán las muestras del primer periodo para el diseño de la escala, y las del segundo periodo para el proceso de validación. Se han desarrollado las siguientes figuras para representar el proceso de diseño. Figura 2, 3 y 4.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECPVEN-H/17

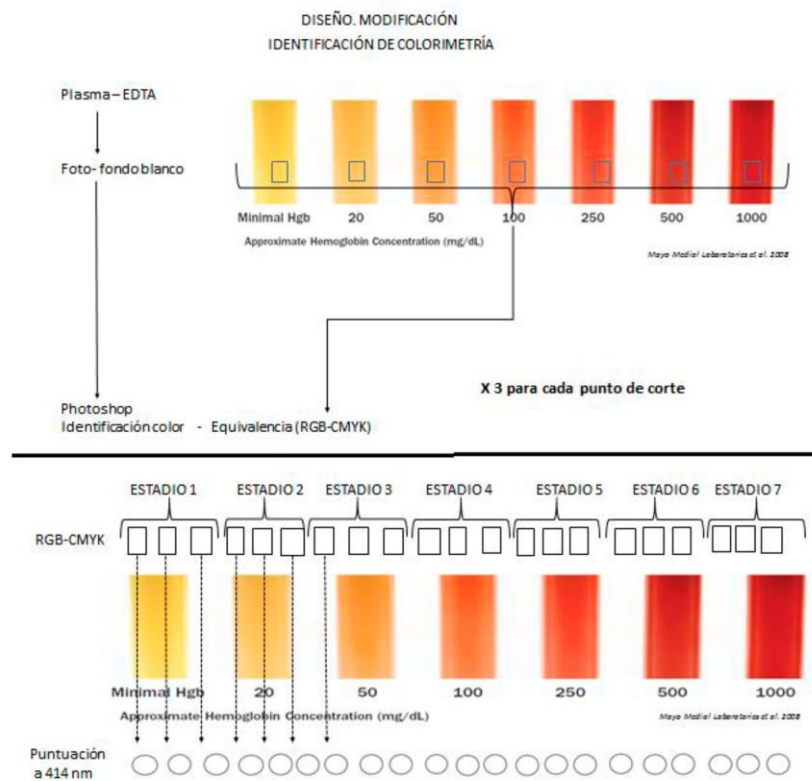


Figura 2. Diseño desde la escala de referencia. Elaboración propia.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

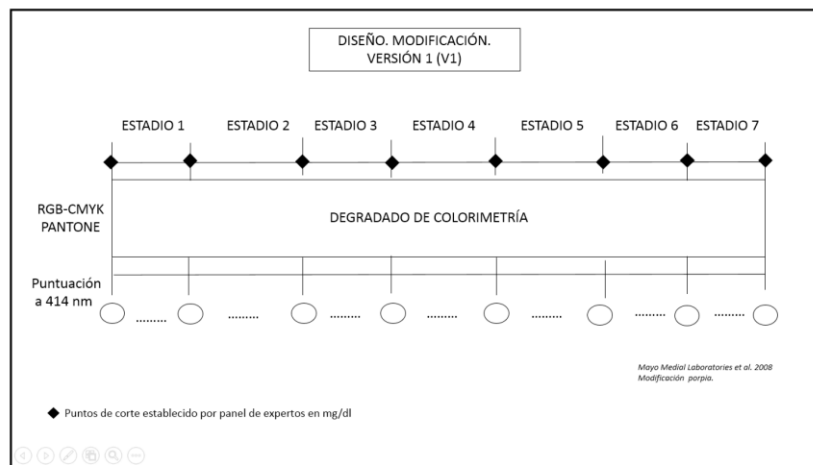


Figura 3. Diseño de la nueva escala (V1). Elaboración propia.

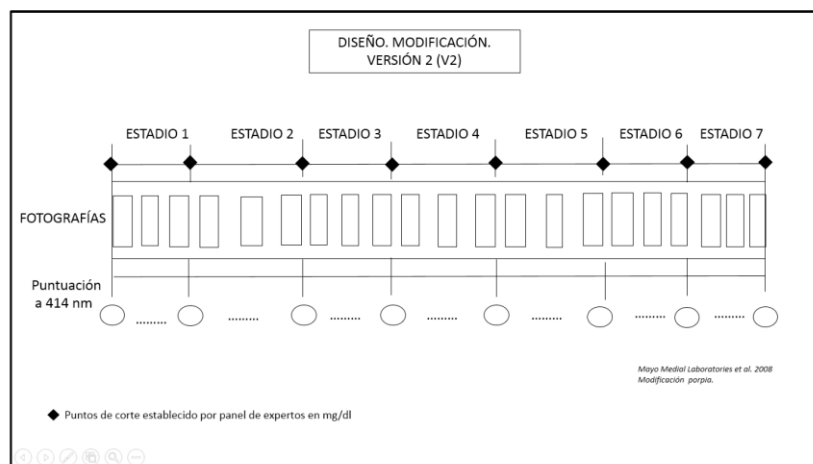


Figura 4. Diseño de la nueva escala (V2). Elaboración propia.

14.2.3.2. JUSTIFICACIÓN DEL DISEÑO DE LA ESCALA

Se utiliza la escala o tabla de hemólisis para suero o plasma; propuesta por *MAYO Medical Laboratories* (29) por ser la más utilizada por otros estudios de investigación y, la extrapolación de resultados sea menos costosa (63,64). Cada punto de corte recoge un color y se asocia a una concentración diferente (29). En la nueva escala cada estadio recoge un rango de absorbancias y colores o fotografías. Se considera necesario aclarar que no se prevé la inferencia ni asociación de colorimetría a concentraciones en la nueva escala. Figura 3 y 4.

Se estima que podría estar justificado el uso de dichos recursos por los siguientes supuestos:

Se considera relevante partir de esta escala de base (29) por la información que aporta, en términos de colorimetría es útil para descifrar su codificación, a través del programa informático *Photoshop*. Sirve como referencia para la asociación de la información de colores que resulten hallados en el trabajo de campo, e indirectamente de sus intensidades visuales de hemólisis. Así, como de los puntos de corte que figuran, para poder establecer estadios.

Se prevé la necesidad de armonizar la estructura del soporte en el que se realizará la fotografía, en este caso en alícuotas de 1,4 ml de capacidad. Cada ensayo clínico de bioequivalencia requiere cantidades de plasma diferentes lo que se considera que podría alterar la colorimetría de la fotografía. De esta manera se evitaría las posibles fluctuaciones de capacidades y cantidades de material biológico que podría acarrear en el caso de que presente protocolo se llevase a cabo en diferentes ensayos clínicos a causa del tamaño muestral requerido.

Así mismo, se considera justificado realizar las fotografías sobre fondo blanco a través de la adhesión de una pegatina blanca en la parte posterior de la alícuota, pues se armoniza entre todas las muestras, y, en la práctica se identifican tanto las muestras sanguíneas en tubos de vacío como en las alícuotas de dicha manera; por lo que la detección visual del trabajo de campo y la práctica habitual se ajustan.

Se utilizará para la elaboración del degradado colorimétrico, Figura 3, el código triestímulo, RGB; por ser el sistema que permite mayor rango de tonalidades y ser la usada en los dispositivos electrónicos, como ordenadores y móviles. Para plasmar dichas tonalidades estandarizadas en el soporte papel, será necesario la codificación a CMYK, es decir a un sistema cuatriestímulo. El cual se obtiene también en *Photoshop*. Los códigos *Pantone* © correspondiente a los colores intermedios precisarán de estimaciones en base a los códigos mencionados.

A pesar de que el *Photoshop* no es la técnica más exacta para la medición de colores, se han encontrado dificultades para abordar la dimensión de colorimetría; pues la correlación de colores en medios líquidos y sólidos no se ajusta. Además, la medición de la hemoglobina precisa de un punto de corte fijo de nanómetros, por lo que, la correlación de longitud de onda y su color correspondiente se encontraría sesgado y la información obtenida no sería útil.

Además la colorimetría se encuentra comprometida en diferentes medios sólidos como la pantalla del ordenador y en el soporte papel.

Por los motivos expuestos, se considera justificado la elaboración de dos versiones en el proceso de diseño de la nueva escala. A priori se desconoce si, la estimación de la colorimetría (V1) para el ajuste entre los medios, podría acarrear sesgos o, por el contrario, no sería lo suficientemente significativa. La extrapolación de resultados sería más ajustada con códigos de colores estandarizados en ambos soportes (V1), pero se ha considerado que sean los observadores, en la etapa de validación, quienes revelen cuánto se ajustan cada una de ellas.

Se considera pertinente el uso de la espectrofotometría, pues aunque no es la técnica más discriminativa de las existentes actualmente para la cuantificación de absorbancias, si se encuentra identificada como discriminativa y ampliamente utilizada por su relación calidad-precio. A pesar, de acarrear una sensibilidad del 48% según Shash JS et al., el resto de valores de precisión de esta técnica diagnóstica se encuentra dentro de los rangos considerados como aceptables (52). Se desconoce sus razones de verosimilitud positivas/negativas para poder extrapolar dichos resultados y, por tanto, los que exponen estarían distorsionados por la muestra utilizada en su investigación. Shah JS et al. y otros autores, en los últimos años de investigación en este campo, afirman la pertinencia de la técnica de la absorbancia para la detección de hemólisis como mayor precisión que las concentraciones, tal y como se venía realizando (51,52,53). Además, en la institución donde se prevé realizar el trabajo de campo cuenta con acceso de dicho dispositivo y procedimiento, disponible y económicamente factible, a través de un investigador colaborador del presente estudio.

Las primeras muestras que se obtengan de los primeros voluntarios incluidos en este estudio no será posible someterlas a inspección visual de los observadores; aún estaría en fase de diseño. Sin embargo, éstas serán analizadas con espectrofotometría y fotografiadas, por lo que se medirían igualmente pero de forma objetiva. Se podría considerar que se mide también de forma subjetiva; dado que dicha fotografía formaría parte del diseño de la escala y se estaría valorando indirectamente al utilizar esta herramienta para valorar otras muestras; ya sea en la versión 1 ó 2.

14.2.3.3. VALIDACIÓN DE LA ESCALA UNIDIMENSIONAL

14.2.3.3.1. ANÁLISIS DE LA PRECISIÓN

- A. FIABILIDAD/REPRODUCTIBILIDAD DE LA ESCALA. Informa del grado en que un instrumento mide sin error y cuya variabilidad de datos se debe a los valores reales que toma una variable, sin ser producto de sesgo o error aleatorio. Requiere de repetición de medición de absorbancias del plasma de los sujetos para cada uno de los estadios formulados; el mismo número de veces en cada estadio.

El instrumento está calibrado con el mismo aditivo y suero salino al 0,9%. Los tubos para hemolisis estarán armonizados siendo siempre el mismo aditivo k2-EDTA. Los enfermeros tienen experiencia/destreza en la extracción de muestras y el colaborador en el manejo de la máquina correctamente.

La variabilidad entre las muestras no será muy grande debido al *screening* y los criterios de inclusión/exclusión del ensayo de bioequivalencia.

Por todo esto el error sistemático disminuye, aunque se debe estudiar la varianza total, con mayor peso de dicha varianza por la variabilidad intraindividual (diferencias verdaderas y no debidas a sesgos o aleatorios). Se realizará el cálculo estadístico mediante el coeficiente alfa de cronbach.

Se ha utilizado la calculadora muestral GRANMO (62) de proporciones para una población. El objetivo es saber cuántas muestras se necesitan para cada estadio de la escala y así poder analizar la varianza entre cada estadio. El objetivo es alcanzar una puntuación de 0,8 en el cálculo del alfa de cronbach para obtener una fiabilidad aceptable de la escala. Con un error aleatorio del 5% y una precisión de 0,185 para el intervalo de confianza. El error estándar se ha realizado con la proporción de 0,8 que se pretende alcanzar y la n corresponde al número de estadios que, en principio, se pretende formular. Por lo tanto se obtiene que se necesitan un total de 18 individuos, o lo que es lo mismo en este caso, 18 muestras sanguíneas. Puesto que se pretende formular siete estadios, finalmente corresponden a, al menos, tres muestras a analizar por estadio; se corresponde con las recomendaciones de Gómez R et al. (30).

- B. CONSISTENCIA INTERNA. Correlación entre los estadios, se recomienda solo en escalas multidimensionales. Se podría realizar una correlación de Pearson entre rangos de absorbancias y estadios para observar si ambos siguen una asociación lineal de incremento.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

- C. PODER DISCRIMINANTE. No se va a evaluar desde un punto de vista estadístico. Para los estadios se seguirá lo estudiado en la literatura como clínicamente relevante; justifica que cada estadio discrimina de manera objetiva. Bilirrubina y lipemia controladas.
- D. TEST-RETEST / FIABILIDAD INTRA-OBSERVADOR. Se evaluará la reproductibilidad del instrumento evaluando la absorbancia del plasma de las muestras sanguíneas en condiciones equivalentes, pues el tiempo influye en que las condiciones del plasma sanguíneo cambie, repitiendo la medición dos veces mínimo; con uno o dos microlitros cada vez según instrucciones de uso; se procederá al cálculo de CCI. También se podrá conocer el error técnico de medición (ETM). Mismo cálculo compartido para ambas versiones.
- E. FIABILIDAD INTEROBSERVADOR. Se abordará este ítem con la colaboración de varios observadores; APÉNDICE N. Se les dotará de una formación, APÉNDICE L, y un CRD independiente para la evaluación ciega, en la cual figurará la nueva escala con las dos versiones, Figura 3 y 4, tanto en soporte electrónico como en formato papel, y se les pedirá que puntúen algunas muestras sanguíneas, estratégicamente seleccionadas; apartado 9.7.3.
Se les requerirá que puntúen de manera individual según los estadios. Se procederá al cálculo del índice Kappa para cada estadio y para cada versión y así conocer las discrepancias entre observadores. APÉNDICE N.

14.2.3.3.2. ANÁLISIS DE LA VALIDEZ

- A. VALIDEZ DE APARIENCIA O LÓGICA. Para su abordar la conveniencia de los estadios, se ha basado en la literatura; pues se consideran expertos en la temática. Se reflejará en el apartado 14.2.3.
- B. VALIDEZ DE CONTENIDO. Se pretende evaluar si los ítems representan los que se quiere medir, es decir, aumento de intensidad de hemolisis. Se podría utilizar la correlación de Pearson entre los estadios visuales y las puntuaciones de intensidad. Evaluado en 14.2.1.2. B.
- C. VALIDEZ DE CRITERIO. Se pretende evaluar la concordancia entre las medidas por absorbancias y las realizadas por los observadores, realizado en el índice Kappa y correlaciones intraclass. Se pretende calcular sensibilidad y especificidad con sus razones de verosimilitud correspondientes, así como la curva ROC de la inspección visual.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

La validez predictiva se llevará a cabo en el momento que se realiza Kappa, es decir, los observadores puntúan las muestras específicas por horario, y después se contrastarán con las absorbancia de cada una. Valores predictivos positivos (VPP) y valores predictivos negativos (VPN), el conjunto de ellos se obtiene la precisión de predicción. Dichos parámetros se calcularán para cada versión.

No es posible conocer la sensibilidad y especificidad ni otros parámetros de la espectrofotometría para la hemólisis libre en plasma por la falta de factibilidad de corroborar la información que aporta la absorbancia con otra medida diagnóstica o muestra comercial.

D. VALIDEZ DE CONSTRUCTO.

En primer lugar, se evaluará la validez convergente y la validez divergente, discriminabilidad, de los estadios de inspección visual de la nueva escala de hemólisis y la propuesta por Mayo Clinics Laboratories; no se pretende abordar en primera instancia. Sin embargo, se valorará la posible convergencia o divergencia de las versiones uno y dos, según correlaciones de Pearson/ ICC (Mayor de 0.60 convergencia y menor de 0,20 divergencia). En el caso de encontrar una convergencia entre ambas, la que mejor se adapte en el índice Kappa será la que se utilizará para la comprobación de hipótesis bilateral.

En segundo lugar, se pretende probar si la nueva escala de inspección visual es suficientemente eficaz, en términos de VPP, y si, por tanto, predice adecuadamente lo que se quiere medir. Estableciéndose el mismo parámetro, aproximadamente de predicción positiva para cada uno de los estadios. Para ello es necesario el cálculo de prueba de hipótesis bilateral; apartado 14.2.2.

14.2.3.4. METODOLOGÍA DEL DISEÑO Y VALIDACIÓN DE LA ESCALA DE HEMÓLISIS

Se considera que la metodología utilizada para llevar a cabo la validación de la escala podría estar justificada por la guía de estudios de precisión diagnóstica STARD (65). Dicha guía aborda estudios en los cuales lo que se pretende estudiar es evaluado con una referencia clínica o *gold estándar* (63). Se siguen los pasos especificados por la guía para asegurar que los resultados y conclusiones sean válidos, así como la consideración de la aplicabilidad de los mismos.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

14.3. ANÁLISIS SECUNDARIO ADJUNTO

Se ha considerado que el abordaje de los objetivos secundarios no principales, podrían llevarse a cabo a través de la siguiente metodología:

Identificar la efectividad de todos los métodos empleados en venopunción antebraquial, en lo que refiere a la venopunción al primer intento.

Se pretende abordar mediante una regresión logística, en el mismo momento en el que se proceda a realizar estadística multivariante para la variable principal.

Evaluar la intensidad de hemólisis de las muestras sanguíneas, en lo que refiere al método aplicado, respectivamente.

Se considera que hay suficiente información de dicha temática como para usar un test paramétrico. En este caso que, la intensidad de hemólisis es la variable dependiente, se considera justificado utilizar un test ANOVA de un ensayo por bloques.

Identificar la frecuencia de venopunción exitoso al primer intento y analizar si existe asociación entre ésta y las características demográficas de los individuos.

Se pretende abordar mediante estadística descriptiva. Para analizar la asociación se realizará una regresión logística; técnica multivariante.

Analizar la correlación entre métodos empleados, intensidad de hemólisis y dolor.

Se podría considerar que del dolor se conoce suficiente información como para utilizar técnicas paramétricas, supone ser la variable dependiente y es discreta. Por lo tanto, se pretende abordar mediante la técnica estadística ANOVA o test F de dos vías sin interacción.

Identificar y cuantificar los eventos secundarios, así como su relación con los tipos de piel.

Para la identificación y cuantificación se llevará a cabo una estadística descriptiva. Para la valorar la posible asociación, mediante la escala de Fitzpatrick, se considera que no se evidencia información suficiente sobre su distribución por lo que se considera acertado utilizar un test de tipo no paramétrico; el test de Kruskal-Wallis.

14.4. ANÁLISIS INTERMEDIOS.

No aplica.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

15. APÉNDICES

A. REGISTRO CRITERIOS INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	SEÑALAR	
ESTADIO VIA I-V	SI <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
INGESTA LÍQUIDOS <= 500 ML 6-8 H PREVIAS	SI <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>

ESTADIO VIA : _____

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	SEÑALAR	
ESTADIO VIA I	SI <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
INGESTA LÍQUIDOS > 500 ML 6-8 H PREVIAS	SI <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>

Nº SUJETO ____

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 1

Nº SUJETO ____
ESCALA VENOUS INTERNATIONAL ASSESSMENT (VIA)

VIA scale	Possible puncture points (at least)	Catheter caliber (at least)	Extravasation risk	Venipuncture performance	IV medicine status
Grade I	6	18G	Remote	Very easy	Can run fast and resistance free
Grade II	4	20G	Low	Easy	Resistance
Grade III	3	22G	Possible	Not easy	Tendency to prolonged infusion
Grade IV	1	24G	High	Difficult	Easy to react
Grade V	0	No real possibilities	Very high	Very difficult	Very easy to react

De la Tabla 1. International Venous Access Guidelines (IVAG) - 2014. Adapted by García-Morales / García-Morales et al. (2014) 40-42

Punto de punción óptimo: Aquel que presenta condiciones adecuadas en resistencia a la rotura, elasticidad al la palpación y trayecto venoso libre de la distal a la proximal en el caso de punción para inyección endovenosa.

Si sujeto ESTADIO I a GRADE I → **EXCLUSIÓN** (Realizar técnica habitual)

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 2

Elaboración propia.

B. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS DE INTERVENCIONES.

BRAZO []

Nº SUJETO ____
INTERVENCIÓN A APLICAR (Breve explicación recordatoria)

INGESTA LÍQUIDOS DESPUÉS DE LAS 24H → Cuántos vasos _____ (Máximo 2 y medio/500 ml)

PRIMERA VALORACIÓN ESCALA VIA

EI ☐ EII ☐ EIII ☐ EIV ☐ EV ☐

Si sujeto EI → **EXCLUSIÓN** (Realizar técnica habitual)

SEGUNDA VALORACIÓN ESCALA VIA

EI ☐ EII ☐ EIII ☐ EIV ☐ EV ☐

CAMBIO DE ESTADIO ÉXITO ☐ FRACASO ☐

VENOPUNCIÓN PRIMER INTENTO ÉXITO ☐ FRACASO ☐

Nº Intento exitoso ____

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 3

Elaboración propia.

C. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS DEL COMPARADOR.

BRAZO []

Nº SUJETO ____
APLICACIÓN TÉCNICA HABITUAL (Según CLSI H03-A6)

INGESTA LÍQUIDOS DESPUÉS DE LAS 24H → Cuántos vasos _____ (Máximo 2 y medio/500 ml)

SEGUNDA VALORACIÓN ESCALA VIA

EI ☐ EII ☐ EIII ☐ EIV ☐ EV ☐

VENOPUNCIÓN PRIMER INTENTO ÉXITO ☐ FRACASO ☐

Nº Intento exitoso ____

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 11

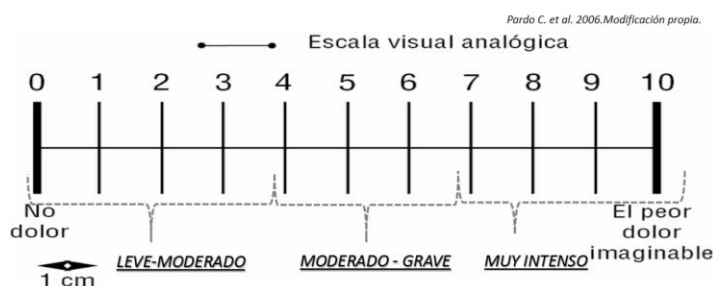
Elaboración propia.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

D. ESCALA DEL DOLOR EVA/NUMÉRICA MODIFICADA



Elaboración propia. Modificación de: Pardo C, Muñoz T, Chamorro C. Monitorización del dolor: Recomendaciones del grupo de trabajo de analgesia y sedación de la SEMICYUC. Med. Intensiva [Internet]. 2006 Nov [citado 2017 Feb 21]; 30(8): 379-85. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-56912006000800004&lng=es

E. ESCALA DE FITZPATRICK MODIFICADA.

Phototype	Sunburn and tanning history (defines the phototype)	Constitutive color (unexposed buttock skin)
I	Burns easily, never tans	Ivory white
II	Burns easily, tans minimally with difficulty	White
III	Burns moderately, tans moderately and uniformly	White
IV	Burns minimally, tans moderately and easily	Beige-olive, lightly tanned
V	Rarely burns, tans profusely	Moderate brown or tanned
VI	Never burns, tans profusely	Dark brown or black

Elaboración propia. Modificado de: Sachdeva S. Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2009;75(1):93-6.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

F. EJEMPLO DEL INTERIOR DE SOBRE CERRADO ALEATORIZADO.

The figure consists of eight numbered screenshots (1-8) showing the internal structure of a randomized closed envelope. The screenshots display various forms including patient information, treatment allocation, and randomization details.

Elaboración propia.

G. CAUSALIDAD DE EFECTOS ADVERSOS

NOMBRE	DEFINICIÓN
(1)DEFINITIVA	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal plausible en relación con la aplicación de terapia y que no puede ser explicado por la enfermedad concurrente, ni por otros fármacos /sustancias. La respuesta a la supresión de la terapia debe ser plausible clínicamente . El acontecimiento debe ser definitivo desde un punto de vista fenomenológico, con una re-exposición concluyente.
(2)PROBABLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal razonable en relación con la terapia, que es improbable que se atribuya a la enfermedad concurrente/sustancias, y que al retirar la terapia se presenta una respuesta clínicamente razonable . No se requiere reexposición.
(3)POSIBLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal razonable en relación con la terapia, pero que puede ser explicado también por la enfermedad concurrente/sustancias. La información respecto a la retirada de terapia puede faltar o no estar clara.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

(4)IMPROBABLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una <u>secuencia temporal improbable</u> , y que puede ser explicado de forma más <u>plausible por la enfermedad concurrente/sustancias</u> .
(5)CONDICIONAL/NO CLASIFICADA.	Acontecimiento clínico notificado como una reacción adversa, que es <u>imprescindible obtener más datos</u> para poder hacer una evaluación apropiada, o los datos adicionales están bajo examen.
(6)NO EVALUABLE/ INCLASIFICABLE.	Una notificación que sugiere una reacción adversa, que <u>no puede ser juzgada</u> debido a que la información es insuficiente o contradictoria.

Elaboración propia. Adaptación a terapia no farmacológica. Fuente: Organización mundial de la salud.

Comités de farmacoterapia - Guía práctica. 2003. 163 pg. Consultado a 20 de Enero de 2017. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/js8121s/7.4.html>.

H. DEFINICIÓN DE GRAVEDAD DE EFECTOS ADVERSOS

NOMBRE	DEFINICIÓN
(1) GRAVE	Mortal o potencialmente mortal.
(2) MODERADA	Requiere la administración de un antídoto, tratamiento u hospitalización.
(3) LEVE	Síntomas que sólo requieren la interrupción del tratamiento.
(4) INCIDENTAL	Síntomas muy leves que permiten que el paciente decida si continuar el tratamiento.

Elaboración propia. Modificación de: World Health Organisation. Definitions by WHO. 1972.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECPVEN-H/17

I. HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOJA DE INFORMACIÓN

ENSAYO CLINICO CRUZADO INCOMPLETO, DE TRES BRAZOS CONTROLADO CON PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL, UNICÉNTRICO Y CIEGO A TERCEROS PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD DEL CALOR Y/O PRESIÓN EN VENOPUNCIÓN ANTEBRAQUIAL Y EL IMPACTO EN LA INTENSIDAD DE HEMÓLISIS.

CÓDIGO: ECPVEN-H/17

PROMOTORA E INVESTIGADORA PRINCIPAL: LETICIA CARMEN SIMÓN LÓPEZ (*Enfermera en la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de la Princesa. Servicio de Farmacología Clínica*).

CENTRO: Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de La Princesa.

INTRODUCCIÓN

Usted ha sido invitado a participar en el presente estudio por ser voluntario de un ensayo clínico con medicamentos que se llevará a cabo en el mismo centro (indicado más arriba). Antes de proceder a explicarle detalladamente en qué consiste, me gustaría agradecerle el tiempo y el interés que dedica al presente estudio. Si tuviese alguna duda a lo largo de la explicación, por favor, hágalo saber.

FUNDAMENTO

Es un estudio de carácter universitario, vinculado al programa de Doctorado en Cuidados de la Salud de la Universidad Complutense de Madrid.

El objetivo del estudio es identificar si el uso del calor y/o presión facilitan la obtención de “una vía” al primer intento, analizar si influye en la calidad de la muestra sanguínea, es decir, detectar la intensidad del color del plasma (hemólisis). Por último, conocer el grado de dolor percibido, así como las posibles molestias y su relación con los tipos de piel.

DESARROLLO DEL ESTUDIO

El estudio consiste en aplicar dos métodos diferentes de implantación de catéteres venosos seguidos de una extracción sanguínea, en dos días distintos no consecutivos, los cuales se corresponden con los ingresos en la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital de La Princesa.

Día (A). La implantación del catéter se llevará a cabo de manera habitual, con una presión en el brazo normal (COMPARADOR). Consiste en la aplicación de la goma elástica (azul o verde) tal y como se realiza habitualmente.

Día (B). La implantación del catéter podrá llevarse a cabo mediante alguna de las tres siguientes intervenciones:

- INTERVENCIÓN CALOR LOCAL. Consiste en la aplicación de dos sacos térmicos depositados en el antebrazo dónde se prevé pinchar, durante 7 minutos. Posteriormente se retiran, y se aplica presión normal en el brazo (con una goma elástica).

- INTERVENCIÓN PRESION ALTA. Consiste en aplicar presión con el tensiómetro (aparato para medir la tensión), en lugar de la goma elástica.

- INTERVENCIÓN CALOR LOCAL Y PRESIÓN ALTA. Se aplicarán ambas intervenciones en conjunto. Primero se aplicará el calor, según se ha reseñado más arriba; y a continuación, se aplicará la presión con el tensiómetro en lugar de la goma elástica.

La duración máxima de las intervenciones será de 15 minutos aproximadamente.

Cada participante tiene la misma probabilidad de que se le extraiga una muestra sanguínea con cualquiera de las tres intervenciones. Cada participante tiene la misma probabilidad de secuencia respecto a método de extracción, pudiendo ser sometido el día (A) de manera habitual (comparador) y el día (B) con alguna de las intervenciones; o viceversa, primero día (B) y luego día (A).

Tras la instalación del catéter, se evaluará la muestra sanguínea extraída, en concreto, el grado de tinción del plasma; componente de la sangre que se tiñe por la destrucción de los glóbulos rojos (hemólisis). El análisis del grado de hemólisis será comparado con

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

muestras de sangre extraídas en otros momentos del estudio (otras dos muestras más), sin que conlleve ninguna extracción adicional a las estipuladas en el ensayo con medicamento del que es voluntario, y cuyo método de extracción en estas dos muestras será el estándar. El plasma restante de sus muestras sanguíneas serán desechadas a un contenedor biológico y destruidas según el procedimiento habitual y marcado por el ensayo clínico con medicamentos. Solamente se le medirá la intensidad de tinción, en ningún momento se determinarán parámetros sanguíneos.

EN QUÉ CONSISTE SU PARTICIPACIÓN

Después de la implantación de “la vía”, se le pedirá que responda unas preguntas de una escala para valorar lo siguiente, en ambos ingresos:

- Evaluación del dolor (Escala EVA).
- Evaluación del tipo de piel (Escala Fitzpatrick).

Además, se le solicitará que, en la medida de lo posible:

- No supere la ingesta de dos vasos y medio de agua o 500 ml desde las 00h en la noche del ingreso.
- Comunique cualquier molestia a los enfermeros y, a ser posible, a la investigadora principal.

RIESGOS Y BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Se ha descrito posibilidad de enrojecimiento local en el antebrazo, de aparición sólo en “pieles sensibles” que remite a los minutos sin necesidad de tratamiento.

No se ha descrito ningún caso de sensación de hormigueo temporal en el brazo cuando se aplica presión alta con el tensiómetro, pero se considera que se podría producir; equivalente a la toma de tensión habitual.

Así mismo, se han registrado efectos beneficiosos en el aumento de la visualización y palpación de las venas del antebrazo, paso previo a la colocación de la vía venosa, con la intervención combinada de calor y presión.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Potencialmente, se considera que el enrojecimiento de piel local que remite en minutos reflejaría mayor beneficio que la aparición de un hematoma de potencial duración prolongada a días producido por punciones fallidas. La sensación de hormigueo temporal, con fácil solución, podría reducir el dolor percibido, cuyo impacto sería beneficioso.

No se ha registrado ningún riesgo por la observación de la intensidad de la tinción del plasma en muestras sanguíneas. Se podría considerar que el beneficio indirecto estaría directamente relacionado con la transcendencia de los hallazgos clínicos. Por lo tanto, una reducción de punciones fallidas, o una punción exitosa al primer intento, aumenta el confort del sujeto y disminuye el dolor.

No supone **ningún riesgo grave y beneficios potenciales** la participación al presente estudio. Así mismo, todo el material utilizado se encuentra comercializado.

OTRAS CONSIDERACIONES IMPORTANTES

Se registrarán datos relacionados con la salud de los participantes siempre sin ánimo de lucro y con carácter de desarrollo del conocimiento científico.

Se mantendrá la confidencialidad de los datos recogidos a través de una codificación reversible y anonimización una vez haya finalizado el ingreso y/o molestia, si hubiere. Cualquier dato queda sometido al secreto profesional durante y después del estudio, así mismo, la cesión de datos solamente podrá llevarse a cabo cuando estén anonimizados según la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

Si se produjese algún efecto secundario, éste será seguido por la investigadora principal y la investigadora colaboradora Dra. Dolores Ochoa Mazarro de este estudio hasta el cese del mismo, ya sea en persona o vía telefónica (ver contacto de la investigadora principal). Así mismo, estos quedarían cubiertos por el seguro del ensayo clínico del que, en primera instancia, va a ser partícipe.

Podrá realizar todas las preguntas que considere pertinentes y serán contestadas. No se llevará a cabo ningún procedimiento de los descritos si no se ha recogido la conformidad

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

debidamente cumplimentada por cada sujeto, según lo establecido en el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos y en el Real Decreto 1616/2009, de 26 de octubre, por el que se regulan los productos sanitarios implantables activos.

De la misma manera, no se llevará a cabo ningún procedimiento de evaluación de las muestras sanguíneas si no se ha recogido previamente su conformidad expresa y debidamente cumplimentada después de haber recibido toda la información necesaria; según lo establecido en Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.

La participación es totalmente **voluntaria**, podrá revocar su conformidad en cualquier momento sin consecuencias negativas para usted.

Puede ser excluido del estudio si el equipo investigador del estudio lo consideran oportuno, ya sea por su seguridad o porque no está siguiendo las instrucciones proporcionadas.

CONTACTO DE LA INVESTIGADORA PRINCIPAL. Unidad de Ensayos Clínicos. Hospital Universitario de La Princesa. C/Diego de León 62. Código postal 28006. Teléfono de contacto: 91 520 24 25 / 91 520 22 47. Dirección de correo electrónico: leticia.simon@salud.madrid.org

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____

he comprendido todo lo que se encuentra reflejado por escrito en la hoja de información, percibo que la información ha sido suficiente y he podido hacer preguntas sobre el estudio cuyo código es ECYPVEN-H/17. Así mismo, éstas han sido resueltas por _____. Declaro que se me ha entregado un ejemplar original del presente documento.

Comprendo que es de carácter voluntario y que puedo retirar mi participación sin consecuencias negativas, en cualquier momento y sin tener que aportar justificaciones.

Por lo tanto, presto libremente mi conformidad en la participación del presente estudio y doy mi consentimiento para el uso de mis datos, siempre con fines no lucrativos y para el fomento del desarrollo científico.

☐

Así mismo, presto mi conformidad para valorar la intensidad de tinción del plasma/hemólisis en algunas muestras sanguíneas que se me extraigan durante mi ingreso.

Firma del participante

Firma del investigador

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

ECYPVEN-H/17

Versión 1.0 (Original)

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

J. REGISTRO DE LOS SUJETOS RECLUTADOS Y REEMPLAZADOS.

IDENTIFICACIÓN SUJETOS	CONFIDENCIAL	ECYPVEN-H/17
------------------------	--------------	--------------

SUJETOS RECLUTADOS	
Nº SUJETO	NOMBRE

•

•

•

SUJETOS REEMPLAZADOS	
Nº SUJETO	NOMBRE

•

•

•

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

K. Memoria económica

MEMORIA ECONÓMICA RECURSOS MATERIALES
ENSAYO CLÍNICO ECYPVEN-H/17

ESFIGMOMANOMETROS (4)

ESFIGMOMANÓMETRO- QUIROMED

16,99 x 4 + gastos de envío= 73,70 eurosSACOS TÉRMICOS (12 sacos de 10x10)

TUSACOTERMICO

4 pares + 1 par de reserva + 1 par por pérdida → 6 pares

4 euros x 12 (Incluidos gastos de envío)= 48 eurosCRONÓMETROS CUENTA ATRÁS PORTÁILES (4)

TEMPORIZADOR DIGITAL PORTÁTIL.

8,00 euros x 4 (Iva incluido) = 32 eurosCÁMARA FOTOGRÁFICA

X

PHOTOSHOP

X

TOTAL: 153,70 EUROS

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

L. Formación del equipo enfermero

FORMACIÓN DEL EQUIPO ENFERMERO

Título. ENSAYO CLINICO CRUZADO INCOMPLETO, DE TRES BRAZOS CONTROLADO CON PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL, UNICÉNTRICO Y CIEGO A TERCEROS PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD DEL CALOR Y/O PRESIÓN EN VENOPUNCIÓN ANTEBRAQUIAL Y EL IMPACTO EN LA INTENSIDAD DE HEMÓLISIS.

Código del protocolo: ECYPVEN-H/17

Datos relativos al promotor e investigador principalInvestigación independiente. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

Dña. Leticia Carmen Simón López

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006.Madrid

Teléfono: 680721340

e-mail: letsimon@ucm.es / leticia.simon@salud.madrid.org**Datos relativos a los investigadores colaboradores**

Dra. Dolores Ochoa Mazarro.

Investigadora principal del ensayo clínico de bioequivalencia.

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47

e-mail: mdolores.ochoa@salud.madrid.org

D. Sergio Luquero Bueno.

Investigador colaborador.

Biobanco. Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47 / e-mail: sergio.luquero@salud.madrid.org

Se le entregará un sobre cerrado a cada individuo que haya firmado en consentimiento informado. Una vez se abra el sobre conoceremos cuáles de las siguientes intervenciones de aplicación le ha sido asignado a cada uno.

INTERVENCIONES

Las intervenciones se aplicarán ANTES de la venopunción:

1. PRIMERA INTERVENCION

Consiste en la aplicación de calor tópico seco con dos sacos, conjuntas previamente calentadas en el microondas durante 0,30 segundos a 850 W de potencia.

Ambos sacos son depositados de forma alineada y consecutiva en el área anatómico candidato a la venopunción, durante 7 minutos. Posteriormente se retiran, y se aplica el torniquete. **Se programará un cronómetro para que, pasados los siete minutos, suene una alarma.**

2. SEGUNDO INTERVENCION

Consiste en aplicar presión con el tensiómetro, en lugar del torniquete de látex, a una presión de 70-10 mmHg. Siempre se verificará el pulso radial.

3. TERCER INTERVENCION

Se aplicarán ambos. Primero se aplicará el calor, pasados los siete minutos de aplicación (Cronómetro cuenta atrás), se aplicará la presión con el tensiómetro entre 70-100 mmHg.

4. CUARTO INTERVENCION

Consiste en la aplicación del torniquete elástico tal y como se realiza habitualmente. La venopunción debe realizarse con guantes; como se hace habitualmente.

CRITERIO DE EXCLUSIÓN

Según la escala *Venous International Assessment* (VIA), de la Torre et al.:

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECPVEN-H/17

VIA scale	Possible puncture points (at least)	Catheter caliber (at least)	Extravasation risk	Venipuncture performance	IV medicine status
Grade I	6	18G	Remote	Very easy	Can run fast and resistance free
Grade II	4	20G	Low	Easy	Resistance
Grade III	3	22G	Possible	Not easy	Tendency in prolonged infusion
Grade IV	1	24G	High	Difficult	Easy to reach
Grade V	0	No real possibilities	Very high	Very difficult	Very easy to reach

Se considera **punto de punción óptimo**. *Aquél que presenta condiciones adecuadas en resistencia a la rotura, elasticidad a la palpación y trayecto venoso libre de lo distal a lo proximal en el caso de punción para inyección endovenosa*, según de la Torre et al.

- Si un voluntario, al evaluar el antebrazo óptimo, valoramos que tiene seis venas superficiales óptimas desde lo distal a lo proximal, no son tortuosas y sin durezas; dicho voluntario queda excluido del estudio. Criterio expuesto a la experiencia, destreza y juicio de los enfermeros.
- Un voluntario que haya ingerido > de dos vasos y medio de líquido o más de 500 ml a partir de las 00H queda excluido.

Se considerará **éxito**, tras la inserción del catéter, se produzca un reflujo venoso y sea posible la extracción de una muestra sanguínea basal.

Además, en el sobre se incluirá la escala EVA/Numérica y la escala de Fitzpatrick. Ambas son “autoexpresivas”, por lo que las deben de completar los voluntarios.

Si se observan reacciones adversas a los métodos aplicados, se registrarán de acuerdo a lo siguiente:

CAUSALIDAD (**)	
NOMBRE	DEFINICIÓN
(1) DEFINITIVA	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal plausible en relación con la aplicación de terapia y que no puede ser explicado por la enfermedad concurrente, ni por otros fármacos/sustancias. La respuesta a la suspensión de la terapia debe ser plausible clínicamente . El acontecimiento debe ser definitivo desde un punto de vista fenomenológico, con una re-exposición concluyente.
(2) PROBABLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal razonable en relación con la terapia, que es improbable que se atribuya a la enfermedad concurrente/sustancias, y que al retirar la terapia se presenta una respuesta clínicamente razonable . No se requiere reexposición.
(3) POSIBLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal razonable en relación con la terapia, pero que puede ser explicado también por la enfermedad concurrente/sustancias. La información respecto a la retirada de terapia puede faltar o no estar clara.
(4) IMPROBABLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal improbable , y que puede ser explicado de forma más plausible por la enfermedad concurrente/sustancias .
(5) CONDICIONAL/N O CLASIFICADA.	Acontecimiento clínico notificado como una reacción adversa, que es impredecible obtener más datos para poder hacer una evaluación apropiada, o los datos adicionales están bajo examen.
(6) NO EVALUABLE/ INCLASIFICABLE.	Una notificación que sugiere una reacción adversa, que no puede ser juzgada debido a que la información es insuficiente o contradictoria.

GRAVEDAD (***)	
NOMBRE	DEFINICIÓN
(1) GRAVE	Mortal o potencialmente mortal.
(2) MODERADA	Requiere la administración de un antídoto, tratamiento u hospitalización.
(3) LEVE	Síntomas que sólo requieren la interrupción del tratamiento.
(4) INCIDENTAL	Síntomas muy leves que permiten que el paciente decida si continuar el tratamiento.

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Elaboración propia. Adaptación a terapia no farmacológica. Fuente: Organización mundial de la salud. Comités de farmacoterapia - Guía práctica. 2003. 163 pg. Consultado a 20 de Enero de 2017. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js8121s/7.4.html>.

En todas las páginas del cuaderno de recogida de datos se registrará una breve explicación a modo de recordatorio de lo aquí expuesto. Además, de la posibilidad de realizar preguntas a lo largo del trabajo de campo o, previo, a través de correo electrónico o contacto telefónico.

Podéis completar los efectos secundarios con el número que viene () o con la **palabra**, como queráis.

DINÁMICA DEL TRABAJO DE CAMPO

La dinámica consistiría en lo siguiente:

Investigadora principal y enfermera colaboradora

- La investigadora principal a su llegada, con minutos de antelación, valora a los individuos, que han firmado el CI, no cumplen los criterios de exclusión.
- Se abrirá los sobres, e intentará aplicar las intervenciones que involucran calor tópico; pues son las intervenciones que acarrearán más tiempo.

Enfermeros colaboradores

- Se encontrarán los sobres abiertos y valorados el criterio de inclusión/exclusión. La primera valoración de la escala VIA ya estará realizada y sólo habrá que transcribirla.
- Dentro de cada sobre figura el CRD de cada individuo.
- A los enfermeros les aplica preguntar y registrar sobre ingesta de líquidos después de las 24H. Aplicar las intervenciones. Segunda valoración escala VIA. Registrar el número de intento exitoso de venopunción.
- Registro de efectos secundarios,
- Datos de constantes y características de los sujetos (Serán recogidos en los CRD del ensayo de bioequivalencia. Ya se habrá medido los parámetros previamente. Sólo requiere transcribir)

Sujetos voluntarios

- Las escalas de dolor y tipos de piel las rellenan los individuos, son autoexpresivas.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECPVEN-H/17

EJEMPLO DEL CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS (CRD)

Nº SUJETO ____ BRAZO []

INTERVENCIÓN A APLICAR (Breve explicación recordatoria)

INGESTA LÍQUIDOS DESPUÉS DE LAS 24H → Cuántos vasos ____ (Máximo 2 y medio/500 ml)

PRIMERA VALORACIÓN ESCALA VIA

EI ☐ EII ☐ EIII ☐ EIV ☐ EV ☐

Si sujeto EI → EXCLUSIÓN (Realizar técnica habitual)

SEGUNDA VALORACIÓN ESCALA VIA

EI ☐ EII ☐ EIII ☐ EIV ☐ EV ☐

CAMBIO DE ESTADIO ÉXITO ☐ FRACASO ☐

VENOPUNCIÓN PRIMER INTENTO ÉXITO ☐ FRACASO ☐

Nº Intento exitoso ____

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 3

Nº SUJETO ____

ESCALA VENOUS INTERNATIONAL ASSESSMENT (VIA)

VIA scale	Possible puncture points (at least)	Catheter caliber (at least)	Extravasation risk	Venipuncture performance	IV medicine status
Grade I	6	18G	Remote	Very easy	Can run fast and resistance free
Grade II	4	20G	Low	Easy	Resistance
Grade III	3	22G	Possible	Not easy	Tendency in prolonged infusion
Grade IV	1	24G	High	Difficult	Easy to reach
Grade V	0	No real possibilities	Very high	Very difficult	Very easy to reach

De la Torre JC, Alvarado-Soto M, Parado-Cabrera A, Oliva-Pellicer B, García-Pedra J, Fernández M et al. Venous International Assessment, VIA scale, validated classification procedure for the peripheral venous system. J Vasc Access. 2024; 25(2): 49-58.

Punto de punción óptimo. Aquél que presenta condiciones adecuadas en resistencia a la rotura, elasticidad a la palpación y trayecto venoso libre de lo distal a lo proximal en el caso de punción para inyección endovenosa.

Si sujeto ESTADIO I o GRADE I → EXCLUSIÓN (Realizar técnica habitual)

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS

2

Nº SUJETO ____

EVENTOS ADVERSOS Y EVENTOS ADVERSOS NO DESEABLES

EVENTOS ADVERSOS NO DESEABLES				
ORDEN	DESCRIPCIÓN	MEDIDA TOMADA (*)	CAUSALIDAD (**)	GRVEDAD (***)

(*) En caso de ninguna -> X

(**) Escribir la palabra o número -> Reverso

(***) Escribir la palabra o número -> Reverso

OBSERVACIONES

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS

5

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

CAUSALIDAD (**)

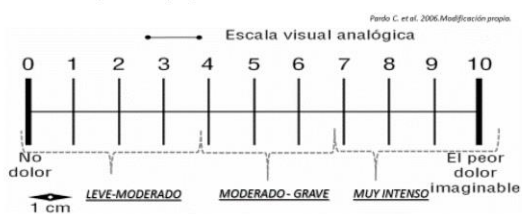
NOMBRE	DEFINICIÓN
(1) DEFINITIVA	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal plausible en relación con la aplicación de terapia y que no puede ser explicado por la enfermedad concurrente, ni por otros fármacos/sustancias. La respuesta a la suspensión de la terapia debe ser plausible clínicamente . El acontecimiento debe ser definitivo desde un punto de vista fenomenológico, con una re-exposición concluyente.
(2) PROBABLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal razonable en relación con la terapia, que es improbable que se atribuya a la enfermedad concurrente/sustancias, y que al retirar la terapia se presenta una respuesta clínicamente razonable . No se requiere reexposición.
(3) POSIBLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal razonable en relación con la terapia, pero que puede ser explicado también por la enfermedad concurrente/sustancias. La información respecto a la retirada de terapia puede faltar o no estar clara.
(4) IMPROBABLE	Acontecimiento clínico que se manifiesta con una secuencia temporal improbable , y que puede ser explicado de forma más plausible por la enfermedad concurrente/sustancias.
(5) CONDICIONAL/N O CLASIFICADA.	Acontecimiento clínico notificado como una reacción adversa, que es impredecible obtener más datos para poder hacer una evaluación apropiada, o los datos adicionales están bajo examen.
(6) NO EVALUABLE/ INCLASIFICABLE.	Una notificación que sugiere una reacción adversa, que no puede ser juzgada debido a que la información es insuficiente o contradictoria.

GRAVEDAD (***)

NOMBRE	DEFINICIÓN
(1) GRAVE	Mortal o potencialmente mortal.
(2) MODERADA	Requiere la administración de un antídoto, tratamiento u hospitalización.
(3) LEVE	Síntomas que sólo requieren la interrupción del tratamiento.
(4) INCIDENTAL	Síntomas muy leves que permiten que el paciente decida si continuar el tratamiento.

CUADERNO REGISTRO DE DATOS

Nº SUJETO ____
 ESCALA VISUAL ANALÓGICA/NUMÉRICA (EVA)



DURANTE LA VENOPUNCIÓN HA SENTIDO UN DOLOR DE

CUADERNO REGISTRO DE DATOS

5

Nº SUJETO ____
 ESCALA FITZPATRICK

Phototype	Sunburn and tanning history (defines the phototype)	Constitutive color (unexposed buttock skin)
I	Burns easily, never tans	Ivory white
II	Burns easily, tans minimally with difficulty	White
III	Burns moderately, tans moderately and uniformly	White
IV	Burns minimally, tans moderately and easily	Beige-olive, lightly tanned
V	Rarely burns, tans profusely	Moderate brown or tanned
VI	Never burns, tans profusely	Dark brown or black

Modificación propia. Sachdeva S et al, 2009

TIPO DE PIEL

Referencia: zona medial del brazo

CUADERNO REGISTRO DE DATOS

8

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Nº SUJETO ____
FILIACIÓN INDIVIDUOS
 Ayuno respetado en las 6-8h previas a la canalización venosa periférica SI ☐ NO ☐
 Edad ____
 Sexo H ☐ M ☐
 Raza Caucásico ☐ Negra ☐ Asiática ☐ Latina ☐
 TA ____ / ____ mmHg
 FC ____ lpm
 T ____ °C
 IMC ____ Kg/m²
 Observaciones (patologías con potencial afectación a miembros superiores y/o pie):

 CUADERNO REGISTRO DE DATOS 9

Nº SUJETO ____
APLICACIÓN TÉCNICA HABITUAL (Según CSI H03 AE)
 BRAZO []
 INGESTA LÍQUIDOS DESPUÉS DE LAS 24H → Cuántos vasos _____ (Máximo 2 y medio / 500 ml)
 SEGUNDA VALORACIÓN ESCALA VIA
 EI ☐ EII ☐ EIII ☐ EIV ☐ EV ☐
 VENOPUNCIÓN PRIMER INTENTO ÉXITO ☐ FRACASO ☐
 Nº Intento exitoso ____
 CUADERNO REGISTRO DE DATOS 11

Nº SUJETO ____
EVALUACIÓN HEMÓLISIS
 PRIMER PERIODO -BASAL
 PROCESADO (2000 rpm 10 minutos 40°C) SI ☐ NO ☐
 INTENSIDAD COLORIMETRÍA → SEGÚN NANODROP → puntuación
 PROCESADO (2000 rpm 10 minutos 40°C) SI ☐ NO ☐
 INTENSIDAD COLORIMETRÍA → Observadores (*) SEGÚN NANODROP → puntuación
 CUADERNO REGISTRO DE DATOS 13

ÉSTE ÚLTIMO LO ENCONTRARÉIS EN EL CRD PERO SÓLO APLICA A NIVEL DE LABORATORIO.

Por último, agradecer el tiempo dedicado a leer este documento y, si es posible, por vuestra colaboración para el desarrollo del conocimiento enfermero y evidencia científica.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

FORMACIÓN DEL EQUIPO OBSERVADOR

Título. ENSAYO CLINICO CRUZADO INCOMPLETO, DE TRES BRAZOS CONTROLADO CON PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL, UNICÉNTRICO Y CIEGO A TERCEROS PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD DEL CALOR Y/O PRESIÓN EN VENOPUNCIÓN ANTEBRAQUIAL Y EL IMPACTO EN LA INTENSIDAD DE HEMÓLISIS.

Código del protocolo: ECYPVEN-H/17

Datos relativos al promotor e investigador principal

Investigación independiente. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

Dña. Leticia Simón López

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006.Madrid

Teléfono: 680721340

e-mail: letsimon@ucm.es / leticia.simon@salud.madrid.org

Datos relativos a los investigadores colaboradores

Dra. Dolores Ochoa Mazarro.

Investigadora principal del ensayo clínico de bioequivalencia.

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47

e-mail: mdolores.ochoa@salud.madrid.org

D. Sergio Luquero Bueno.

Investigador colaborador.

Biobanco. Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario de la Princesa.

Calle Diego de León 62. 28006. Madrid

Teléfono: + 34 91 520 22 47 / e-mail: sergio.luquero@salud.madrid.org

En primer lugar, se os pedirá vuestro juicio en relación a valoración de la colorimetría del plasma de las muestras sanguíneas específicas, que os serán avisados previamente.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Serán tres por periodo aproximadamente:

1. Basal.
2. Vespertina.
3. Nocturna.

PRIMER PERIODO

La valoración del primer periodo será ciega para el evaluador pero sólo será necesario un colaborador.
El documento al completar será el siguiente por cada sujeto.

Nº SUJETO: ... COLABORADOR: _____

EVALUACIÓN HEMÓLISIS

PRIMER PERIODO

1. BASAL: ... H
PROCESADO (2000 rpm 10 minutos etc) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA →

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

 SEGÚN NANODROP →

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

 puntuación

2. VESPERTINA: ... H
PROCESADO (2000 rpm 10 minutos etc) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA →

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

 SEGÚN NANODROP →

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

 puntuación

3. NOCTURNA: ... H
PROCESADO (2000 rpm 10 minutos etc) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA →

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

 SEGÚN NANODROP →

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

 puntuación

CUADERNO RECORDA DE DATOS

SEGUNDO PERIODO

La evaluación será ciega para el personal observador, en el laboratorio de procesamiento de muestras de la UECHUP.

Los observadores desempeñarán su función sólo en el segundo periodo; corresponde con la etapa de validación.

Se os proporcionarán dos versiones del diseño, y se deben valorar las muestras que se indiquen a través de ambas versiones.

DISEÑO, MODIFICACIÓN, VERSIÓN 1 (V1)

ESTADIO 1 ESTADIO 2 ESTADIO 3 ESTADIO 4 ESTADIO 5 ESTADIO 6 ESTADIO 7

RGB-CMYK
PANTONE

DEGRADADO DE COLORIMETRÍA

Puntuación a 414 nm

Miguel Ángel Labatortola et al. 2008
Modificación propia

◆ Puntos de corte establecido por panel de expertos en mg/dl

DISEÑO, MODIFICACIÓN, VERSIÓN 2 (V2)

ESTADIO 1 ESTADIO 2 ESTADIO 3 ESTADIO 4 ESTADIO 5 ESTADIO 6 ESTADIO 7

FOTOGRAFÍAS

Puntuación a 414 nm

Miguel Ángel Labatortola et al. 2008
Modificación propia

◆ Puntos de corte establecido por panel de expertos en mg/dl

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

Se registrará en el siguiente documento. Un documento por cada observador. Se utilizarán copias del documento para el mismo sujeto; una copia para cada observador.

Nº SUJETO: __
EVALUACIÓN HEMÓLISIS

OBSERVADOR Nº: _____

SEGUNDO PERIODO (*)

1. BASAL: ____ : ____ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4ºC) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐

INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V1) → ☐ Electrónico ☐ Papel Estadio
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V2) → ☐ Electrónico ☐ Papel Estadio

SEGÚN NANODROP → ☐ 1ª ☐ 2ª ☐ 3ª puntuación

2. VESPERTINA: ____ : ____ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4ºC) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐

INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V1) → ☐ Electrónico ☐ Papel Estadio
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V2) → ☐ Electrónico ☐ Papel Estadio

SEGÚN NANODROP → ☐ 1ª ☐ 2ª ☐ 3ª puntuación

3. NOCTURNA: ____ : ____ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4ºC) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐

INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V1) → ☐ Electrónico ☐ Papel Estadio
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V2) → ☐ Electrónico ☐ Papel Estadio

SEGÚN NANODROP → ☐ 1ª ☐ 2ª ☐ 3ª puntuación

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 5

Se completa de la siguiente manera:

- Intensidad colorimetría. Para la versión 1 (V1) y 2 (V2).
 - ☐ Primer cuadrado corresponde al estadio en formato electrónico
 - ☐ Segundo cuadrado corresponde al estadio en formato papel
- Según NanoDrop. Lo evaluará el colaborador.
 - ☐ El primer recuadro corresponde a la primera medición.
 - ☐ El segundo recuadro corresponde a la segunda medición.

IMPORTANTE. COMPLETAR EL Nº DE OBSERVADOR ASIGANDO.

Si la tercera medición de absorbancia no se realiza escribir "X" en su casilla correspondiente.

M. REGISTRO DE COLABORADORES

REGISTRO COLABORADORES		
NOMBRE	PUESTO	FIRMA

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

N. REGISTRO DE OBSERVADORES Y CRD DE INTENSIDAD DE HEMÓLISIS

REGISTRO OBSERVADORES		
Nº OBSERVADOR	TITULACIÓN/PUESTO	FIRMA

Ejemplo de CRD intensidad de hemólisis

Nº SUJETO: __
EVALUACIÓN HEMÓLISIS

COLABORADOR: _____

PRIMER PERIODO

1. BASAL: __: __ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4°C) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA →

--	--	--	--

 SEGÚN NANODROP →

1*	2*	3*
----	----	----

 puntuación

2. VESPERTINA: __: __ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4°C) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA →

--	--	--	--

 SEGÚN NANODROP →

1*	2*	3*
----	----	----

 puntuación

3. NOCTURNA: __: __ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4°C) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA →

--	--	--	--

 SEGÚN NANODROP →

1*	2*	3*
----	----	----

 puntuación

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 3

Nº SUJETO: __
EVALUACIÓN HEMÓLISIS

OBSERVADOR Nº: _____

SEGUNDO PERIODO (*)

1. BASAL: __: __ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4°C) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V1) →

--	--

 Estadio
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V2) →

--	--

 Estadio
SEGÚN NANODROP →

1*	2*	3*
----	----	----

 puntuación

2. VESPERTINA: __: __ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4°C) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V1) →

--	--

 Estadio
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V2) →

--	--

 Estadio
SEGÚN NANODROP →

1*	2*	3*
----	----	----

 puntuación

3. NOCTURNA: __: __ H
PROCESADO (3500 rpm 10 minutos 4°C) + EVALUADO → SI ☐ NO ☐
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V1) →

--	--

 Estadio
INTENSIDAD COLORIMETRÍA (V2) →

--	--

 Estadio
SEGÚN NANODROP →

1*	2*	3*
----	----	----

 puntuación

CUADERNO RECOGIDA DE DATOS 5

O. BIBLIOGRAFÍA

1. Real Academia Española. Diccionario de la Lengua Española. 23 ed. Madrid: Espasa; 2014.
2. Ministerio de Sanidad y Política Social. Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comité de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Ensayos Clínicos. Vol. 307. Boletín Oficial del Estado. 2015;121923-64.
3. Durán P. Los datos perdidos en estudios de investigación ¿son realmente datos perdidos?. Arch argent pediatr. 2005; 103 (6) :566-8. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752005000600015
4. Conferencia Internacional de Armonización (CIARM). Normas de buenas prácticas clínicas (BPC). Conferencia Internacional de Armonización (CIARM) sobre requerimientos técnicos para el registro de productos farmacéuticos para uso en humanos. 1998. 61 pg.
5. Enciclopedia Salud. Definición de Eritema [Internet]. 2016 [Consultado a 13 Feb 2017]. Disponible en: <http://www.enciclopediasalud.com/definiciones/eritema>
6. Doctissimo. Lipemia [Internet]. 2017 [Consultado a 13 Feb 2017]. Disponible en: <http://www.doctissimo.com/es/salud/diccionario-medico/lipemia>
7. PANTONE. Definición del color [Internet]. 2015. Disponible en: <http://store.pantone.com/es/es/definicion-del-color>
8. Medline. Entumecimiento y hormigueo [Internet]. [Actualizado 2015; consultado 14 Feb 2017]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003206.htm>
9. Ministerio de Sanidad y Política Social. Real Decreto 1616/2009, de 26 de octubre, por el que se regulan los productos sanitarios implantables activos. Vol. 268, Boletín Oficial del Estado. 2009; 92779-823.
10. De la Torre JC. Diseño y validación de una escala de clasificación del sistema venoso periférico como valor pronóstico y utilidad en pacientes sometidos a terapia intravenosa (Venous International Assessment) [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología; 2014.
11. Medline. Quemaduras [Internet]. [Actualizado 2016; consultado 15 Feb 2017]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000030.htm>
12. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Documentos que acreditan el cumplimiento con la legislación de productos sanitarios. [Internet]. 2010. 14 pg. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/productosSanitarios/2010/docs/NI-cumplimiento-legislacion-PS.pdf>

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

13. Loro N, Sancho MJ, Sáncho MT, Martínez E, Peiró A. Enfermería: canalizaciones periféricas, atención, cuidados, mantenimiento y complicaciones. España: Enfermería Global; 2005;7;465-481. Disponible en: <http://revistas.um.es/eglobal/article/viewFile/481/465>
14. Milutinovic D, Andrijevic Il, Milijana L, Andrijevic L. Confidence level in venipuncture and knowledge on causes of in vitro hemolysis among healthcare professionals. *Biochem Medica*. 2015;25(3):401-9.
15. Berman A, Seyder SJ, Kozier B, Erb G. Fundamentos de Enfermería conceptos, procesos y prácticas. Volumen II. 8 ed. Madrid: Prentice-Hall;2008.
16. Silbernagl S, Despopoulos A. Fisiología Texto y Atlas. 7ed. Madrid: Médica Panamericana; 2009.
17. Tablas de valores de sensación térmica por frío (Wind Chill) y por calor (heat index). Agencia Estatal de Meteorología (AEMT). España. 2016; 3 pg.
18. Garcia G, Bojórquez G, Ruiz P. Sensación térmica percibida en vivienda económica y autoproducida, en periodo cálido, para clima cálido húmedo. *Ambient. Constr*. 2011; 11(4): 99-111.
19. Péculo JA. ¿Es posible reducir el dolor en la inserción de catéter periférico intravenoso utilizando cremas antiestésicas antes de la punción?. *Enferm Clin*. 2010; 20(6):374-5.
20. Huff L, Hamlin A, Wolski D, McClure T, Beoglos A, Weaver L et al. Atraumatic care: EMLA cream and application of heat to facilitate peripheral venous cannulation in children. *Pediatric Nursing*. 2009; 32:65-76.
21. Suren M, Kaya Z, Ozkan F, Erkorkmaz U, Arici S, Karam S. Comparision of the use of the Valsalva maneuver and the eutectic mixture of local anesthetic (EMLA) to relieve venipuncture pain: a randomized controlled trial. 2013; 27:407-11.
22. Hsieh C, Kong J, Kirsch I, Edwards RR, Jensen KB, Kaptchuk TJ et al. Well-loved music robustly relieves pain: a randomized, controlled trial. *PLOS One*. 2014; 9(9): 1-8.
23. Chlan L, Halm MA. Does music ease pain and anxiety in the critically ill?. *American Journal of Critical Care*. 2013; 22(11): 528-32.
24. Hudson BF, Ogden J, Whiteley MS. Randomized controlled trial to compare the effect of simple distraction interventions on pain and anxiety experienced during conscious surgery. *Europ J of Pain*. 2015; 19(1): 1447-55.
25. Lima-Oliveira G, Lippi G, Luca G, Raulino MD, Adala KS, Dos Santos Gomes F et al. A new device to relieve venipuncture pain can affect hematology test results. *Blood Transfus*. 2014; 12(1): 6-10.
26. Plebani M, Lippi G. Closing the brain-to-brain loop in laboratory testing. *Clin Chem Lab*

- Med. 2011;49(7):1131-3.
27. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Picheth G, Guidi GC. Laboratory Diagnostics and Quality of Blood Collection. J Med Biochem [Internet]. 2015;34(3):288-94. Disponible en: <http://www.degruyter.com/view/j/iomb.2015.34.issue-3/iomb-2014-0043/iomb-2014-0043.xml>
 28. Plebani M. Quality Indicators to Detect Pre-Analytical Errors in Laboratory Testing. Clin Biochem Rev. 2012;33:85-8.
 29. Plumhoff EA, Masoner D, Dale JD. Mayo Medical Laboratories. Preanalytic Laboratory Errors: Identification and Prevention. Communiqué [Internet]. 2008;33(12):8. Disponible en: <http://www.mayomedicallaboratories.com/articles/communique/2008/12.html>
 30. Gómez R, Alsina MJ, Álvarez V, Barba N, Cortés M, Llopis MA et al. Hemólisis en las muestras para diagnóstico. Rev Lab Clin. 2009; 2(4): 185-95.
 31. Stauss M, Sherman B, Pugh L, Parone D, Looby-Rodriguez K, Bell A, et al. Hemolysis of coagulation specimens: A comparative study of intravenous draw methods. J Emerg Nurs [Internet]. 2012;38(1):15-21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jen.2010.08.011>
 32. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Quality impact on diagnostic blood specimen collection using a new device to relieve venipuncture pain. Indian J Clin Biochem. 2013;28(3):235-41.
 33. Salleras-Duran L, Fuentes-Pumarola C. Revisión bibliográfica sobre la efectividad, complicaciones, satisfacción de los usuarios y profesionales en la cateterización periférica ecoguiada en relación con la técnica tradicional. Enferm Clin. 2015: 9 pg.
 34. Hyun K, Sang P, Hye S, Yun C. Brachial Plexus injury as a complication after nerve block or vessel puncture. Korean J Pain. 2014; 27(3): 210-8.
 35. Kotaka T, Kimura S, Kashiwayanagi M, Iwamoto J. Camphor Induces Cold and Warm sensation with increase in Skin and muscle blood flow in human. Biol. Pharm. Bull. 2014; 37(12): 1913-18.
 36. De la Torre JC, Montealegre-Sanz M, Faraldo-Cabana A, Oliva-Pellicer B, García-Real I, Fenwick M et al. Venous International Assessment, VIA scale, validated classification procedure for the peripheral venous system. J Vasc Access. 2014; 15(1): 45-50.
 37. Simón LC, Ortuño-Soriano I. Impacto de la aplicación de calor y alta presión de bloqueo tópico en la percepción venosa antebraquial. Estudio experimental no aleatorizado.

- [Trabajo Fin de Máster] Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología; 2016. [Inédito]
38. Fox SI. Fisiología Humana. 12 ed. México: Mc Graw Hill; 2011.
 39. Cobos-carbó A. Ensayos clínicos aleatorizados (CONSORT). Med Clin. 2001;125(1):21-7.
 40. Cobos-Carbó A, Augustovski F. Declaración CONSORT 2010: actualización de la lista de comprobación para informar ensayos clínicos aleatorizados de grupos paralelos. Med Clin Clin. 2011;137(5):213-5.
 41. Boutron I, Moher D, Altman DG, Schulz KF, Ravaud P. Methods and processes of the CONSORT group: Example of an extension for trials assessing nonpharmacologic treatments. Ann Intern Med [Internet]. 2008;148(4):60-6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-148-4-200802190-00008>
 42. National Institutes of Health (NIH). ¿Quiénes corren el riesgo de tener la enfermedad coronaria? [Internet]. 2015. [Consultado a 20 Feb 2017]. Disponible en: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-spanish/health-topics/temas/cad/atrisk#>
 43. Fink RM, Hjort E, Wenger B, Cook PF, Cunningham M, Orf A et al. The impact of dry versus moist heat on peripheral IV catheter insertion in a Hematology-Oncology Outpatient population. Oncology Nursing Forum. 2009; 36(4): 198-204.
 44. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Impact of the phlebotomy training based on CLSI/NCCLS H03-A6 - procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Biochem Med [Internet]. 2012;22(3):342-51. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3900046&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 45. Ferreira-Valente MA, Pais-Ribeiro JL, Jensen MP. Validity of four pain intensity rating scales. Pain [Internet]. 2011;152:2399-404. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2011.07.005>
 46. Pardo C, Muñoz T, Chamorro C. Monitorización del dolor: Recomendaciones del grupo de trabajo de analgesia y sedación de la SEMICYUC. Med Intensiva [Internet]. 2006; 30 (8):379-85. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-56912006000800004&lng=es
 47. Sachdeva S. Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2009;75(1):93-6.

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

48. Eilers S, Bach D, Gaber R, Blatt H, Guevara Y, Nitsche K, et al. Accuracy of Self-report in Assessing Fitzpatrick Skin Phototypes I Through VI. JAMA Dermatol [Internet]. 2013;149(11):1289–94. Disponible en: <http://jamanetwork.com/pdfaccess.ashx?url=/data/journals/derm/929373>
49. Zaleha I, Shamsuddin K, Ismail NB, Lin K, Mahdy Z, Hassan H et al. The reliability of Fitzpatrick Skin Type Chart Comparing to Mexameter (Mx 18) in measuring skin color among first trimester pregnant mothers in petaling district, Malaysia. MJPHM. 2016;16(3):59–65.
50. Jolivot R, Nugroho H, Vabres P, Fadzil A, Marzani F. Validation of a 2D multispectral camera : application to dermatology / cosmetology on a population covering five skin phototypes. ECBO. 2011;10.1117/12:9 pg.
51. Katzman B, Baumann N. Detecting and Handling Hemolysis Using Serum Indices. CLN. 2016;4:1 pág.
52. Shah JS, Soon PS, Marsh DJ. Comparison of methodologies to detect low levels of hemolysis in serum for accurate assessment of serum microRNAs. PLoS One [Internet]. 2016;11(4):1-12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Comparison+of+methodologies+to+detect+low+levels+of+hemolysis+in+serum+for+accurate+assessment+of+serum+microRNAs>
53. Farrell CL, Carter AC. Serum indices : managing assay interference. Ann Clin Biochem [Internet]. 2016;53(5):527–38. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27147624>
54. Saldaña ÍM. Interferencia causada por hemólisis en la determinación de 25 constituyentes bioquímicos en el autoanalizador ADVIA 1800. An Fac med [Internet]. 2015;76(4):377-84. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832015000500008&script=sci_arttext
55. Lapostolle F, Catineau J, Garrigue B, Monmartreau V, Houssaye T, Vecchi I et al. Prospective evaluation of peripheral venous access difficulty in emergency care. Intensive care med. 2007;33:1452-7.
56. Instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos. Guía para determinar la causalidad de RAMS [Internet]. 2015. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/images/stories/formatotramite/IVC-VIG-GU001.pdf>
57. Organización mundial de la salud. Comités de farmacoterapia - Guía práctica. 2003. 163 pg. Consultado a 20 de Enero de 2017. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js8121s/7.4.html>

58. World Health Organisation. Definitions by WHO. 1972
59. Agencia Española del Medicamento y Producto Sanitario (AEMPS). Manual de usuario del portal de ensayos clínicos con medicamentos de uso humano (PORTAL ECM) Volumen IV- Solicitudes de ensayo clínico autorizado. 2014.
60. Ministerio de Sanidad y Política Social. Ministerio de Sanidad y Política Social. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. Vol. 159. Boletín Oficial del Estado. 2007; 39 pg.
61. Ministerio de Sanidad y Política Social. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Vol. 298. Boletín Oficial del Estado. 2011;21 pg.
62. Instituto Mar de Investigaciones Médicas (IMIM).Calculadora de Tamaño Muestral GRANMO. Versión 7.12. Barcelona; 2012. Consultado a 05 de Enero de 2017. Disponible en: <http://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/>
63. Arora S, Kolte S, Dhupia JS. Hemolyzed Samples Should be Processed for Coagulation Studies: The Study of Hemolysis Effects on Coagulation Parameters. Ann Med Health Sci Res [Internet]. 2014;4(2):233-7. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3991946&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
64. Zhao J, Kan Q, Wen J, Li Y, Sheng Y, Yang L, et al. Hemolysis of blood samples has no significant impact on the results of pharmacokinetic data. J Bioequiv Availab. 2012;4(6):82-5.
65. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig L, et al. STARD 2015 – An updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. BMJ [Internet]. 2015;351:1–5. Disponible en: <http://www.bmj.com/content/351/bmj.h5527>

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

16. ANEXOS**ANEXO I. Escala VIA**

VIA scale	Possible puncture points (at least)	Catheter caliber (at least)	Extravasation risk	Venipuncture performance	IV medicine status
Grade I	6	18G	Remote	Very easy	Can run fast and resistance free
Grade II	4	20G	Low	Easy	Resistance
Grade III	3	22G	Possible	Not easy	Tendency in prolonged infusion
Grade IV	1	24G	High	Difficult	Easy to reach
Grade V	0	No real possibilities	Very high	Very difficult	Very easy to reach

De la Torre JC, Montealegre-Sanz M, Faraldo-Cabana A, Oliva-Pellicer B, García-Real I, Fenwick M et al. Venous International Assessment, VIA scale, validated classification procedure for the peripheral venous system. *J Vasc Access*. 2014; 15(1): 45-50.

ANEXO II. CLSI H03-A6 (GP41-A6).

Steps	Procedures	Importance of the procedures
i	prepare accession order	to guarantee patient identity assurance (11-13,41)
ii	approach and identify the patient; sanitize hands	
iii	verify the patient's fasting status or diet restrictions, as appropriate, and inquire	fasting status is a important source of variability (17,42,43)
	if the patient has a latex sensitivity; select appropriate gloves and tourniquet	to prevent allergic reaction and/or anaphylactic shock attributed to latex allergy (44-46)
iv	assemble necessary supplies and select appropriate tubes according to the requests	to prevent errors in laboratory medicine induced by supplies and additives such anticoagulants and clot activators (26-28,47-49)
v	position the patient	to eliminate possible interferences of blood distribution due to different posture (50)
vi	apply the tourniquet and select the venipuncture site and vein	See discussion
vii	put on gloves	preventing phlebotomists' exposure to potentially infectious blood pathogens (51,52)
viii	cleanse the venipuncture site and allow to dry	cleaning prevents infection by skin microorganisms, waiting for drying prevents hemolysis (32,35)
ix	perform venipuncture; once blood flow begins, request the patient to open his/her hand	See discussion
x	fill tubes using the correct order of draw	to prevent errors by cross contamination between additives (53-56)
xi	release and remove the tourniquet	See discussion
xii	place the gauze pad over the puncture site	
xiii	remove the needle, activate any safety feature, and dispose of the device	safe feature for preventing phlebotomists' exposure to potentially infections by bloodborne pathogens (51,52). applying pressure to the site is a efficient prevention of bruise (57)
xiv	apply pressure to the site, making sure bleeding has stopped, and then bandage the arm	
xv	label the tubes and record the time of collection; some facilities also specify phlebotomist identification on the tubes	to reduce missing identification and guarantee the traceability of the process (11,12,40,41)
xvi	observe special handling requirements (if any required)	
xvii	send properly labeled blood collection tubes to the appropriate laboratories	to guarantee diagnostic blood specimens stability (58-61)

Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Impact of the phlebotomy training based on CLSI/NCCLS H03-A6 - procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. *Biochem Med [Internet]*. 2012;22(3):342-51. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3900046&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECPVEN-H/17

ANEXO III. MODIFICACIÓN DE CLSI/NCCLS H03-A6.

Step	CLSI H03-A6	Lima-Oliveira et al.
vi	Apply the tourniquet and select the venipuncture site and vein	Put on gloves
vii	Put on gloves	Cleanse the venipuncture site
viii	Cleanse the venipuncture site and allow to dry	Request the patient to just close his/her hand (never request the patient to »pump«)
ix	Perform venipuncture; once blood flow begins, request the patient to open his/her hand	Apply the tourniquet and select the venipuncture site and vein
x	Fill tubes using the correct order of draw	Perform venipuncture; once blood flow begins, request the patient to open his/her hand Also release and remove the tourniquet
xi	Release and remove the tourniquet	Fill tubes using the correct order of draw

Legend: The steps identification as regards the original CLSI H03-A6 standard (presently replaced by the GP41-A6 document). The comparison shown in this table was previously published (17).

Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Picheth G, Guidi GC. Laboratory Diagnostics and Quality of Blood Collection. *J Med Biochem [Internet]*. 2015;34(3):288-94. Disponible en: <http://www.degruyter.com/view/j/jomb.2015.34.issue-3/jomb-2014-0043/jomb-2014-0043.xml>

ANEXO IV. DECLARACIÓN DE HELSINKI.

DECLARACION DE HELSINKI DE LA ASOCIACION MÉDICA MUNDIAL Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos

Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y enmendada por la 29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983 41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989 48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000 Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002 Nota de Clarificación del Párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004 59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

A. INTRODUCCION

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables.

La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo no debe ser aplicado sin considerar todos los otros párrafos pertinentes.

2. Aunque la Declaración está destinada principalmente a los médicos, la AMM insta a otros participantes en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos

principios.

3. El deber del médico es promover y velar por la salud de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.

4. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".

5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos. Las poblaciones que están subrepresentadas en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.

6. En investigación médica en seres humanos, el bienestar de la persona que participa en la investigación debe tener siempre primacía sobre todos los otros intereses.

7. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones actuales deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos.

8. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y necesitan protección especial. Estas incluyen a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos y a los que pueden ser vulnerables a coerción o influencia indebida.

9. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.

B. PRINCIPIOS PARA TODA INVESTIGACIÓN MÉDICA

11. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación.

12. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

13. Al realizar una investigación médica, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente.

14. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos debe describirse claramente en un protocolo de investigación. Este debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación. El protocolo debe describir los arreglos para el acceso después del ensayo a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o el acceso a otra atención o beneficios apropiadas.

15. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación, a un comité de ética de investigación antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración. El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ningún cambio en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité.

16. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la formación y calificaciones científicas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificado apropiadamente. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

17. La investigación médica en una población o comunidad con desventajas o vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades y prioridades de salud de esta población o comunidad y si existen posibilidades razonables de que la población o comunidad, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.

18. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y las comunidades que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o comunidades afectadas por la enfermedad que se investiga.

19. Todo ensayo clínico debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

20. Los médicos no deben participar en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender inmediatamente el experimento en marcha si observan que los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.

21. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para la persona que participa en la investigación.

22. La participación de personas competentes en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona competente debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.

23. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física, mental y social.

24. En la investigación médica en seres humanos competentes, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento y todo otro aspecto pertinente de la investigación. La persona potencial debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada individuo potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestado formalmente.

25. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, el médico debe pedir normalmente el consentimiento para la recolección, análisis, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación o podría ser una amenaza para su validez. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

26. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.

27. Cuando el individuo potencial sea incapaz, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud de la población representada por el individuo potencial y esta investigación no puede realizarse en personas competentes y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.

28. Si un individuo potencial que participa en la investigación considerado incompetente es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el

médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del individuo potencial debe ser respetado.

29. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. En estas circunstancias, el médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

30. Los autores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación de los resultados de su investigación. Los autores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACION MEDICA SE COMBINA CON LA ATENCION MEDICA

31. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.

32. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con la mejor intervención probada existente, excepto en las siguientes circunstancias:

- El uso de un placebo, o ningún tratamiento, es aceptable en estudios para los que no hay una intervención probada existente.

- Cuando por razones metodológicas, científicas y apremiantes, el uso de un placebo es necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención que no implique un riesgo, efectos adversos graves o daño irreversible para los pacientes que reciben el placebo o ningún tratamiento. Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.

33. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio tienen derecho a ser informados sobre sus resultados y compartir cualquier beneficio, por ejemplo, acceso a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o a otra atención apropiada o beneficios.

34. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una

VERSIÓN (1.0)

CONFIDENCIAL

PROTOCOLO ECYPVEN-H/17

investigación o su decisión de retirarse nunca debe perturbar la relación médico-paciente.

35. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas han resultado ineficaces o no existen, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales intervenciones deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

En Madrid, a 23 de Mayo de 2017



Fdo.: Dña. Leticia Carmen Simón López

ANEXO III



MINISTERIO
DE INDUSTRIA, COMERCIO
Y TURISMO



Oficina Española
de Patentes y Marcas

INSTANCIA DE SOLICITUD

Nº SOLICITUD:	P201900050
FECHA Y HORA DE ENTRADA EN OEPM:	28/3/2019 12:45:15
FECHA Y HORA DE ENTRADA EN LUGAR DISTINTO A LA OEPM:	
LUGAR DE PRESENTACIÓN	CÓDIGO

1. IDENTIFICACIÓN DE LA SOLICITUD

(1) MODALIDAD: <input checked="" type="checkbox"/> PATENTE DE INVENCION <input type="checkbox"/> MODELO DE UTILIDAD		(3) EXPEDIENTE PRINCIPAL O DE ORIGEN:
(2) TIPO DE SOLICITUD: <input type="checkbox"/> SOLICITUD DIVISIONAL <input type="checkbox"/> CAMBIO DE MODALIDAD <input type="checkbox"/> TRANSFORMACIÓN SOLICITUD PATENTE EUROPEA <input type="checkbox"/> ENTRADA EN FASE NACIONAL DE SOLICITUD INTERNACIONAL PCT		MODALIDAD: Nº SOLICITUD: FECHA PRESENTACIÓN:
El solicitante declara, por medio de esta instancia, tener derecho a presentar la solicitud arriba indicada		

2. TÍTULO DE LA INVENCION (4)

PROCEDIMIENTO Y DISPOSITIVO PARA LA DETECCIÓN VISUAL DEL GRADO DE APTITUD DE UNA MUESTRA AISLADA DE SANGRE PARA SU VALIDACIÓN EN ANÁLISIS CLÍNICOS

3. IDENTIFICACIÓN DEL SOLICITANTE

(5) APELLIDOS Y NOMBRE / DENOMINACIÓN SOCIAL					NIF/PASAPORTE	
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID					Q2818014-I	
DIRECCIÓN POSTAL				CÓDIGO POSTAL Y LOCALIDAD	PROVINCIA	
Sec. Contratos y Patentes (OTRI) Fac. de Medicina (Edificio Entrepabellones 7 y 8) c/ Dr. Severo Ochoa, 7 Ciudad Universitaria				28040 - Madrid	Madrid	
PAÍS DE RESIDENCIA	CÓDIGO PAÍS RESIDENCIA	PAÍS DE NACIONALIDAD	CÓDIGO PAÍS NACIONALIDAD	(6) CNAE	(7) PYME	
ESPAÑA	ES	ESPAÑA	ES			
DIRECCIÓN CORREO ELECTRÓNICO		Nº TELÉFONO FIJO	Nº TELÉFONO MÓVIL	(8) INDICACIÓN DEL MEDIO DE NOTIFICACIÓN PREFERENTE		
otripat@ucm.es		913946518		<input type="checkbox"/> CORREO POSTAL <input checked="" type="checkbox"/> CORREO ELECTRÓNICO		
PORCENTAJE DE TITULARIDAD (9): 100 %		NOTA: DE NO ESPECIFICARSE DICHO PORCENTAJE, LA OEPM PRESUMIRÁ IGUALES LAS CUOTAS DE LOS SOLICITANTES.				
EL SOLICITANTE TAMBIÉN ES INVENTOR (10): <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> ESTE INVENTOR RENUNCIA A SER MENCIONADO		<input checked="" type="checkbox"/> NO		MODO DE OBTENCIÓN DEL DERECHO: (11) <input checked="" type="checkbox"/> INVENCION LABORAL <input type="checkbox"/> CONTRATO <input type="checkbox"/> SUCESIÓN <input type="checkbox"/> OTROS		
		(Especificar):				
(12) EL SOLICITANTE ES UNA UNIVERSIDAD PÚBLICA ESPAÑOLA				<input checked="" type="checkbox"/> SÍ		

Ejemplar para el expediente

4. (13) OTROS SOLICITANTES Y/O INVENTORES

☒ LOS DEMÁS SOLICITANTES Y/O INVENTORES SE INDICAN EN HOJA COMPLEMENTARIA

P201900050 28/3/2019 12:45:15

5. IDENTIFICACIÓN DEL REPRESENTANTE Y/O DIRECCIÓN DE CORRESPONDENCIA

(14) REPRESENTACIÓN		(15) Nº PODER GENERAL	
<input type="checkbox"/> EL SOLICITANTE NO ESTÁ REPRESENTADO	EL SOLICITANTE ESTÁ REPRESENTADO POR: <input type="checkbox"/> AGENTE DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL <input type="checkbox"/> OTRO REPRESENTANTE		
(16) ACTUACIÓN POR MEDIO DE AGENTE	APELLIDOS Y NOMBRE / DENOMINACIÓN SOCIAL	CÓDIGO DE AGENTE	
(17) ACTUACIÓN POR MEDIO DE OTRO REPRESENTANTE		APELLIDOS Y NOMBRE	NIF/PASAPORTE
DIRECCIÓN POSTAL	CÓDIGO POSTAL Y LOCALIDAD	PROVINCIA	PAÍS
DIRECCIÓN CORREO ELECTRÓNICO	Nº TELÉFONO	(18) INDICACIÓN DEL MEDIO DE NOTIFICACIÓN PREFERENTE	
		<input type="checkbox"/> CORREO POSTAL <input type="checkbox"/> CORREO ELECTRÓNICO	
<input type="checkbox"/> MÁRQUESE ESTA CASILLA CUANDO NO SE NOMBRE A REPRESENTANTE Y SE QUIERA UTILIZAR LA DIRECCIÓN ARRIBA INDICADA PARA CORRESPONDENCIA			



6. OTROS DATOS

(19) REIVINDICACIÓN DE PRIORIDAD		PAÍS ORIGEN	CODIGO PAÍS	FECHA	NÚMERO
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO					
El solicitante declara, por medio de esta instancia, tener derecho a reivindicar la prioridad arriba indicada					
(20) REMISIÓN A SOLICITUD ANTERIOR		PAÍS ORIGEN	CODIGO PAÍS	FECHA	NÚMERO
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO					
(21) EXPOSICIONES OFICIALES		NOMBRE		FECHA	LUGAR
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO					
(22) EFECTUADO DEPÓSITO DE MATERIAL BIOLÓGICO	AUTORIDAD DE DEPÓSITO	CÓDIGO PAÍS	FECHA	NÚMERO	ORIGEN GEOGRÁFICO
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO					FUENTE DE PROCEDENCIA
(23) RECURSO GENÉTICO		NÚMERO DE CERTIFICADO		NÚMERO DE REGISTRO	
<input type="checkbox"/> UTILIZACIÓN DE RECURSO GENÉTICO					
<input type="checkbox"/> UTILIZACIÓN DE CONOCIMIENTO TRADICIONAL					
LISTA DE SECUENCIAS DE AMINOÁCIDOS Y ÁCIDOS NUCLEICOS					
La descripción contiene una lista de secuencias biológicas en concordancia con la norma ST.25 OMPI <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO					
Se adjunta un soporte de datos legible por ordenador que incluye la lista de secuencias biológicas en concordancia con la norma ST.25 OMPI <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO					
El solicitante declara, por medio de esta instancia, que la información registrada en el soporte de datos legible por ordenador es idéntica a la contenida en la lista de secuencias biológicas incluida en la descripción de la versión escrita de esta solicitud					
(24) EL SOLICITANTE SE ACOGE A LA REDUCCIÓN DE TASAS PREVISTA EN EL ART. 186 DE LA LEY 24/2015 DE PATENTES POR SER EMPRENDEDOR EN LOS TÉRMINOS ESTABLECIDOS LEGALMENTE (Se adjunta instancia y documentación pertinente)					<input type="checkbox"/> SI
(25) SE SOLICITA LA TRAMITACIÓN SEGÚN EL PROGRAMA DE CONCESIÓN ACCELERADA DE PATENTES Y, SIMULTANEAMENTE, LA PUBLICACIÓN DE ESTA SOLICITUD DE PATENTE ANTES DE 18 MESES DESDE LA FECHA DE PRESENTACIÓN DE LA MISMA, DE CONFORMIDAD CON LO DISPUESTO EN LA DISPOSICIÓN ADICIONAL SEXTA DE LA LEY 24/2015 DE PATENTES Y DE LA CORRESPONDIENTE INSTRUCCIÓN.					<input checked="" type="checkbox"/> SI
<input type="checkbox"/> (26) EL SOLICITANTE DISPONE DE UN INFORME DE INFORMACIÓN TECNOLÓGICA REALIZADO POR ESTA OFICINA PARA LA MISMA INVENCIÓN					NÚMERO DE ITP:

Ejemplar para el expediente

P201900050 28/3/2019 12:45:15

7. (27) ÍNDICE DE DOCUMENTOS QUE SE ACOMPAÑAN / FECHA Y FIRMA

<input checked="" type="checkbox"/> DESCRIPCIÓN. Nº PÁGINAS: 24 <input checked="" type="checkbox"/> Nº DE REIVINDICACIONES: 6 <input checked="" type="checkbox"/> DIBUJOS. Nº PÁGINAS: 3 <input type="checkbox"/> LISTA DE SECUENCIAS. Nº PÁGINAS: ____ <input type="checkbox"/> SOPORTE LEGIBLE POR ORDENADOR DE LISTA DE SECUENCIAS <input checked="" type="checkbox"/> RESUMEN <input type="checkbox"/> FIGURA A PUBLICAR EN BOPI Nº: ____ <input type="checkbox"/> DECLARACIÓN DE RENUNCIA A SER MENCIONADO/S COMO INVENTOR/ES	<input checked="" type="checkbox"/> JUSTIFICANTE DEL PAGO DE TASA DE SOLICITUD <input checked="" type="checkbox"/> JUSTIFICANTE DEL PAGO DE TASA DE IET <input type="checkbox"/> JUSTIFICANTE DEL PAGO DE TASA DE PRIORIDAD <input checked="" type="checkbox"/> JUSTIFICANTE DEL PAGO DE TASA DE EXAMEN SUSTANTIVO <input checked="" type="checkbox"/> INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA. Nº HOJAS: ____ <input type="checkbox"/> DOCUMENTACIÓN RELATIVA A REDUCCIÓN DE TASAS <input type="checkbox"/> OTROS:	<div>FIRMA DEL SOLICITANTE O REPRESENTANTE</div> <div></div> <div>Mercedes Gómez de la <i>de la</i> Vicerrectora Transparencia Conoci</div> <div>FIRMA DEL FUNCIONARIO</div> <div></div>
---	--	---

Ejemplar para el expediente

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS, O.A. (OEPM)
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)

5101 (04.17)

Pág. 3 de 3

